



SKRIPSI – TK141581

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN
PENAMBAHAN KULTUR TERHADAP MUTU SAGU
TERMODIFIKASI**

Disusun Oleh:

Ilham Muttaqin Zarkasie

NRP. 2313100019

Wuwuh Wijang Prihandini

NRP. 2313100035

Dosen Pembimbing:

Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.

NIP. 1976 03 23 2002 12 1001

Hakun Wirawasista A. S.T., MMT., PhD

NIP. 1978 09 22 2008 12 1001

**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016**



FINAL PROJECT –TK141581

**EFFECT OF FERMENTATION TIME AND CULTURE
ADDITION ON QUALITY OF MODIFIED SAGO**

Ilham Muttaqin Zarkasie
NRP. 2313 100 019
Wuwuh Wijang Prihandini
NRP. 2313 100 035

Advisor Lecturer :
Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.
NIP. 1976 03 23 2002 12 1001
Hakun Wirawasista A. S.T., MMT., PhD
NIP. 1978 09 22 2008 12 1001

CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016

MOCAF Production from Wild Cassava

(*Manihot glaziovii*)

Name : 1. Ilham Muttaqin Zarkasie (2312 100 019)
2. Wuwuh Wijang Prihandini (2312 100 035)
Advisor : 1. Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.
2. Hakun Wirawasista A, S.T., MMT., Ph.D
Department : Chemical Engineering, FTI-ITS

ABSTRACT

Indonesia is the largest sago landholder in the world. Sago potential in Indonesia is quite abundant. Naturally, sago spreads widely in Indonesia with the largest extent in Papua, while semi-cultivation is in Maluku, Sulawesi, Borneo, and Sumatra. There are about 2 million ha sago forest and approximately half of the world's sago forest is present in Indonesia. In this study the species sago that being used was Metroxylon In this study type of sago has a relatively high starch content of 82.9% with low amylose content of 20.61% and low content of protein 1,41%. Modified sago flour is a derived product from sago using principle of fermentation so as to increase the levels of nutrition of the sago starch and can be used as a food ingredient at a very large scale. The bacteria used for fermentation in this study was *Lactobacillus plantarum* that can convert lactose and other sugars into lactic acid which is good for food nutrition. The variables used are the fermentation time and the concentration of bacteria. If the fermentation time is too long, the color of the modified sago starch is also change, so it is necessary to study the effect of fermentation time and culture addition. The variables used were fermentation time of 12, 24, and 36 hours and bacterial concentration of 7×10^{10} , 7×10^{11} , 1.05×10^{12} , and 3.05×10^{12} cells of *Lactobacillus plantarum*. The response of this study is the growth curve of *Lactobacillus plantarum*, the levels of protein graph, starch content graphs, amylose content and amylopectin content. The best fermentation results that

approaching SNI standard in this study was obtained using variable of $3,5 \times 10^{12}$ cell and 36 hours of fermentation with decreasing starch content from 82,9% to 51,00%, increasing protein content from 1,41% to 4,11% . Although decomposition of starch had not been able to increase the protein content of modified sago flour to SNI standard, that is 7%. However, the product of this study has the potential to be developed into low calorie food products or commonly called Resistance Starch (RS) because it can increase amylose content from 20.61% to 33.06%.

Keywords : Fermentation, *Lactobacillus plantarum*, Metroxylon sagu, Modified sago flour

Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Penambahan Kultur Terhadap Mutu Sagu Termodifikasi

Nama : 1. Ilham Muttaqin Zarkasie (2312 100 019)
2. Wuwuh Wijang P. (2312 100 035)
Dosen Pembimbing : 1. Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.
2. Hakun Wirawasista A, S.T., MMT., Ph.D
Jurusan : Teknik Kimia, FTI-ITS

ABSTRAK

Indonesia adalah pemilik lahan sagu terbesar di dunia. Potensi sagu di Indonesia cukup berlimpah. Secara alami, sagu tersebar hampir di setiap kepulauan di Indonesia dengan luasan terbesar di Papua, sedangkan semi budidaya di Maluku, Sulawesi, Kalimantan, dan Sumatera. Di dunia diperkirakan terdapat 2 juta ha hutan sagu dan kurang lebih setengah hutan sagu dunia ada di Indonesia. Sagu yang digunakan adalah jenis Metroxylon sagu dengan komposisi proksimat per 100 gram sampelnya adalah 94 gram karbohidrat, 0,2 gram protein, 0,5 gram serat, 10 mg kalsium, 1,2 mg besi, dan lemak, karoten, tiamin, dan asam askorbat dalam jumlah sangat kecil. Tepung sagu modifikasi adalah produk yang berasal dari tepung sagu yang dimodifikasi dengan prinsip fermentasi sehingga dapat meningkatkan kadar nutrisi dari tepung sagu tersebut dan bisa digunakan sebagai bahan makanan dengan skala yang sangat luas. Bakteri yang digunakan untuk fermentasi dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus plantarum* yang dapat mengkonversi laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat yang baik untuk nutrisi makanan. Variabel-variabel yang digunakan adalah waktu fermentasi dan konsentrasi jumlah bakteri. Untuk waktu fermentasi digunakan variabel waktu 12, 24, dan 36 jam. Sedangkan untuk jumlah bakteri digunakan variabel 7×10^{10} , 7×10^{11} , $1,05 \times 10^{12}$, dan $3,5 \times 10^{12}$ sel *Lactobacillus plantarum*. Respon dari penelitian ini adalah kurva pertumbuhan *Lactobacillus*

plantarum, grafik kadar protein, grafik kadar pati, dan kadar amilosa serta amilopektin. Fermentasi terbaik yang mendekati standar SNI pada penelitian ini didapatkan menggunakan variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel dan 36 jam fermentasi dengan kadar pati menurun dari 82,9% menjadi 51,00%, kadar protein meningkat dari 1,41% menjadi 4,11%. Walaupun dekomposisi pati belum sanggup untuk meningkatkan kadar protein tepung sagu termodifikasi mencapai standar mutu SNI, yaitu 7%. Namun, produk dari penelitian ini memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi produk makanan rendah kalori atau yang biasa disebut pati tahan cerna / Resistance starch (RS) karena dapat meningkatkan kadar amilosa dari 20,61% menjadi 33,06%.

Kata kunci : Fermentasi, *Lactobacillus plantarum*, Metroxylon sagu, Tepung sagu modifikasi

LEMBAR PENGESAHAN





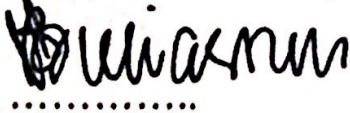
“Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Penambahan Kultur Terhadap Mutu Sagu Termodifikasi”

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Departemen Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

Ilham Muttaqin Zarkasie NRP. 2313 100 019
Wuwuh Wijang Prihandini NRP. 2313 100 138

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D
(Pembimbing I) 
2. Hakun Wirawasista A., S.T., M.MT., Ph.D
(Pembimbing II) 
3. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng
(Penguji I) 
4. Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng
(Penguji II) 
5. Dr. Ir. Sri Rachmania Juliatuti, M.Eng
(Penguji III) 



Surabaya, Juli 2017

KATA PENGANTAR

Segala Bismillahirrahmanirrahim, dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang kami mengucapkan syukur alhamdulillah atas berkat dan rahmat-Nya kami dapat menyelesaikan laporan dengan judul “Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Penambahan Kultur Terhadap Mutu Sagu Termodifikasi” yang dibuat sebagai tugas akhir untuk memperoleh gelar kesarjanaan dari Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS.

Selama penyusunan laporan ini kami banyak sekali mendapat bimbingan dukungan serta bantuan dari banyak pihak. Untuk itu kami ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Juwari, ST., M.Eng. Ph.D , selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya
2. Bapak Setiyo Gunawan, ST., Ph.D selaku Dosen Pembimbing 1 kami dan Bapak Hakun Wirawasista A. S.T., MMT., PhD selaku Dosen Pembimbing 2 kami yang selalu meluangkan waktu untuk senantiasa memberikan kritik, saran, bimbingan, serta dukungan kepada kami
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia
4. Bapak dan Ibu Dosen Pengajar yang telah memberikan ilmunya serta seluruh karyawan Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya
5. Orang tua serta saudara-saudara kami atas doa, dukungan, bimbingan, perhatian, serta kasih sayang yang senantiasa setiap minggunya selalu menanti kabar perkembangan kami selama ini
6. Teman-teman serta keluarga tercinta satu perjuangan di kampus tercinta ini yakni angkatan kami arek-arek K-53 serta Biokim Crew atas dukungan yang telah diberikan.

Kami menyadari bahwa penulisan laporan ini masih ada kekurangan dan belum sempurna, oleh Karena itu kami sangat mengharpkan saran dan masukan yang membangun demi kesempurnaan laporan ini.

Surabaya, Juli 2017

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PENGESAHAN	
ABSTRAK	i
ABSTRACT.....	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan dan Batasan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	5
I.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Sagu	6
II.1.1 Klasifikasi Tanaman Sagu	6
II.1.2 Botani Tanaman Sagu	7
II.1.3 Pemanfaatan Tanaman Sagu	9
II.1.4 Luas Areal Pertumbuhan Tanaman Sagu	10
II.2 Pati	12
II.3 Hidrolisa	19
II.4 Fermentasi	22
II.5 <i>Lactobacillus plantarum</i>	18
II.6 Tepung Sagu	24
II.7. Pati Tahan Cerna	26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
III.1 Variabel Penelitian	29
III.2 Kondisi Operasi	29
III.3 Respon	29
III.4 Bahan yang Digunakan	30
III.5 Alat yang Digunakan	30

III.6 Gambar Alat	32
III.7 Prosedur Penelitian	34
III.7.1 Pembuatan Sagu Modifikasi	34
III.7.1.1 Persiapan Bahan	34
III.7.1.2 Pembuatan Suspensi ...	35
III.7.1.3 Proses Fermentasi	35
III.7.1.4 Proses Pencucian	35
III. 7.1.5 Proses Pemisahan	36
III.7.2. Perhitungan Jumlah Sel	
Mikroorganisme.....	36
III.7.3 Analisa Kadar Pati	
(AOAC, 2005)	37
III.7.4 Analisa Kadar Amilosa	38
III.7.5. Analisa Kadar Amilopektin	38
III.7.6 Analisa Kadar Protein	
(AOAC, 2005)	38
III.8 Flowchart Prosedur Penelitian	40
BAB IV PEMBAHASAN	
IV.1 Kurva Pertumbuhan Lactobacillus	
plantarum	42
IV.2 Proksimat Awal Kandungan Sagu	44
IV.3 Pengaruh Jumlah Bakteri dan Lama	
Fermentasi terhadap Kandungan Pati.....	45
IV.4 Pengaruh Jumlah Sel dan Lama	
Fermentasi Terhadap Kadar Protein	53
IV.5 Analisis Pengaruh Variabel terhadap	
Hasil Penelitian	58
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan	64
V.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	xii
DAFTAR NOTASI	xiv
APPENDIKS	
RIWAYAT HIDUP PENULIS	

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	<i>Metroxylon sago</i>	6
Gambar II.2	Pemanfaatan Tanaman Sagu	10
Gambar II.3	Struktur Rantai Amilosa	13
Gambar II.4	Struktur Rantai Amilopektin	13
Gambar II.5	SEM Granula Pati Beberapa Tanaman	16
Gambar II.6	<i>Lactobacillus plantarum</i>	23
Gambar III.1	Rangkaian Alat Dekstruksi Protein	32
Gambar III.2	Rangkaian Alat Distilasi	32
Gambar III.3	Rangkaian Alat Titration	33
Gambar III.4	(a) <i>Incubator Shaker</i> (b) Inkubator (c) Oven (d) Hemasitometer (e) Mikroskop (f) <i>Centrifuge</i> (g) Botol fermentasi	34
Gambar III.5	Flowchart Prosedur Penelitian Tepung Sagu	40
Gambar IV.1	Kurva Pertumbuhan <i>Lactobacillus</i> <i>Plantarum</i>	43
Gambar IV.2	Proses Hidrolisa Pati Menjadi Glukosa	46
Gambar IV.3	Struktur Rantai Amilosa	46
Gambar IV.4	Molekul Amilopektin	47
Gambar IV.5	Gambar Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Pati	47
Gambar IV.6	Konversi Fermentasi pati	49
Gambar IV.7	Gambar Pengaruh Waktu Fermentasi dan	

	Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Amilosa	51
Gambar IV.8	Pemutusan Rantai Cabang Amilopektin	52
Gambar IV.9	Struktur Asam Amino Penyusun Protein	54
Gambar IV.10	Gambar Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Protein	55
Gambar IV.11	Gambar Plot Kadar Protein terhadap Jumlah Bakteri	57
Gambar IV.12	<i>Normal Probability Plot</i> untuk Respon (a) Kadar Pati (b) Kadar Protein (c) Kadar Amilosa d) Kadar Amilopektin	60

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Jumlah Produksi Sagu di Indonesia	11
Tabel. II.2	Luas Areal Lahan yang Sesuai untuk Perluasan Areal Pertanian	12
Tabel II.3	Komposisi Kimia Pati Beberapa Tanaman	13
Tabel II.4	Komposisi Proksimat Sagu dari Beberapa Jurnal	18
Tabel II.5	Perbandingan Hidrolisa Asam Dan Hidrolisa Enzimatis	20
Tabel II.6	Syarat Mutu Komposisi Tepung Terigu	25
Tabel IV.1	Tabel Komposisi Proksimat Awal Sagu	44
Tabel IV.2	Tabel Komposisi Amilosa dan Amilopektin Sagu	44
Tabel IV.3	Karakteristik Pati Sagu dan Pati Lainnya	49
Tabel IV.4	Data Hasil Penelitian	58
Tabel IV.5	Data Hasil Perhitungan pada Kadar Pati	61
Tabel IV.6	Data Hasil Perhitungan pada Kadar Protein	62
Tabel IV.5	Data Hasil Perhitungan pada Kadar Amilosa	62
Tabel IV.5	Data Hasil Perhitungan pada Kadar Amilopektin	63

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia adalah pemilik lahan sagu terbesar di dunia. Potensi sagu di Indonesia cukup berlimpah. Di dunia diperkirakan terdapat 2 juta ha hutan sagu dan kurang lebih setengah hutan sagu dunia ada di Indonesia. Sekitar 90% di antaranya terdapat di Papua (Marsudi dan Aprillia, 2006). Jika dibudidayakan, produktivitas pati sagu kering mencapai 25 ton/ha/tahun, lebih banyak apabila dibandingkan dengan ubi kayu 1.5 ton/ha/tahun, kentang 2.5 ton/ha/tahun, maupun jagung 5.5 ton/ha/tahun. (Sumaryono, 2007).

Secara alami, sagu tersebar hampir di setiap kepulauan di Indonesia dengan luasan terbesar di Papua, sedangkan semi budidaya di Maluku, Sulawesi, Kalimantan, dan Sumatera. Mengingat tanaman sagu merupakan tegakan alami atau vegetasi hutan alami dan lebih dari 60% merupakan sagu lewat masak terbang (LMT), maka perkiraan potensi produksinya perlu dibuktikan (Badan Litbang Kehutanan, 2007). Ada gambaran bahwa sagu yang berasal dari PNG dengan kerapatan 25 pohon/ha hanya menghasilkan pati 2.5 ton/ha, sedang di Malaysia dan Siberut yang berasal dari penanaman semi budidaya dengan kerapatan 30-36 pohon/ha menghasilkan 10.6 ton/ha dan pada budidaya intensif di Malaysia dengan kerapatan 136-139 pohon/ha memberikan hasil >25 ton/ha.

Berdasarkan perhitungan, produksi sagu jauh lebih besar dibandingkan konsumsi pati sagu sebagai bahan pangan dalam negeri. Besarnya potensi sagu di Indonesia belum termanfaatkan secara optimal. Selama ini baru sekitar 10% dari total area sagu nasional yang dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan pangan serta industri, oleh sebab itu perlu dipikirkan untuk memanfaatkan sisa tersebut untuk keperluan lain.

Sagu merupakan salah satu pohon penghasil karbohidrat yang perlu diperhatikan dalam rangka diversifikasi pangan, mengingat potensinya yang besar tetapi belum diupayakan secara

maksimal. Sehingga perlu diupayakan pengembangan produk berbasis sagu untuk mengurangi ketergantungan terhadap beras. Kandungan kalori sagu relatif sama dengan kalori yang dikandung oleh ubi kayu atau kentang (Djoefrie, 1999), oleh karena itu sagu merupakan salah satu komoditas pangan yang dapat menjawab tantangan di bidang penyediaan pangan.

Sagu merupakan tanaman tahunan. Sagu akan tetap berproduksi secara berkelanjutan selama puluhan tahun dengan sekali tanam. Tanaman penghasil karbohidrat lainnya seperti padi, jagung, ubi kayu, dan tebu merupakan 3 tanaman semusim. Namun, untuk panen pertama paling tidak harus menunggu 8 tahun. Sagu tumbuh baik pada lahan marginal seperti gambut, rawa, payau atau lahan tergenang di mana tanaman lain tidak mampu tumbuh. Panen sagu relatif mudah, namun batang sagu cukup berat sehingga menjadi kendala dalam pengangkutannya ke tempat pengolahan. Selain itu, lokasi hutan sagu umumnya terpencil dan terdapat pada lahan basah sehingga sulit dijangkau (Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, 2007).

Sagu dipanen dengan tahap sebagai berikut:

1. Pohon sagu dirubuhkan dan dipotong hingga tersisa batang saja.
2. Batang dibelah memanjang sehingga bagian dalam terbuka.
3. Bagian teras batang dicacah dan diambil.
4. Teras batang yang diambil ini lalu dihaluskan dan disaring.
5. Hasil saringan dicuci dan patinya diambil.
6. Pati diolah untuk dijadikan tepung atau dikemas dengan daun pisang (dinamakan "basong" di Kendari).

Pohon sagu dapat tumbuh hingga setinggi 20 m, bahkan 30 m. Dari satu pohon dapat dihasilkan 150 sampai 300 kg pati. Suatu survei di Kabupaten Kendari menunjukkan bahwa untuk mengolah dua pohon sagu diperlukan 4 orang yang bekerja selama 6 hari. Tanaman sagu dapat berperan sebagai pengaman lingkungan karena dapat mengabsorpsi emisi gas karbondioksida yang berasal dari lahan rawa dan gambut ke udara (Bintoro, 2008).

Batang sagu ditebang saat kandungan patinya paling tinggi, yaitu menjelang tanaman sagu berbunga. Setelah pohon ditebang, empulur batang diolah untuk mendapatkan tepung sagu. Tepung sagu dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan makanan seperti roti, mie, industri kerupuk, kue kering, dan sirup berfruktosa tinggi. Dengan kemajuan teknologi pangan, sagu dapat dibuat menjadi instant artificial rice siap santap yang dapat bersaing dengan beras alami. Berbagai macam formulasi dapat dikembangkan untuk meningkatkan cita rasa, dan penampilan produk. Tepung sagu juga dapat menunjang berbagai macam industri, baik industri kecil, menengah, maupun industri berteknologi tinggi. Misalnya, tepung sagu dapat digunakan sebagai bahan utama maupun bahan tambahan untuk industri pangan.

Tepung sagu kaya dengan karbohidrat (pati) namun sangat miskin gizi lainnya. Ini terjadi akibat kandungan tinggi pati di dalam teras batang maupun proses pemanenannya. Seratus gram sagu kering setara dengan 355 kalori. Di dalamnya rata-rata terkandung 94 gram karbohidrat, 0,2 gram protein, 0,5 gram serat, 10 mg kalsium, 1,2 mg besi, dan lemak, karoten, tiamin, dan asam askorbat dalam jumlah sangat kecil.

Tepung sagu modifikasi adalah produk tepung dari sagu yang diproses menggunakan prinsip memodifikasi sel sagu dengan cara fermentasi. Mikroba yang tumbuh menyebabkan perubahan karakteristik dan kadar nutrisi pada tepung. Mikroba juga menghasilkan asam-asam organik, terutama asam laktat yang akan terimbisisi dalam tepung. Selain itu proses memodifikasi sagu ini mampu meningkatkan kadar gizi dari tepung sagu modifikasi yaitu dengan meningkatkan kadar protein terkandung.

Lactobacillus adalah genus bakteri gram-positif, anaerobik fakultatif atau mikroaerofilik. Genus bakteri ini membentuk sebagian besar dari kelompok bakteri asam laktat, dinamakan demikian karena kebanyakan anggotanya dapat mengubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat. Kebanyakan dari bakteri ini umum dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Beberapa spesies

Lactobacillus sering digunakan untuk industri pembuatan yoghurt, keju, sauerkraut, acar, bir, anggur (minuman), cuka, kimchi, cokelat, dan makanan hasil fermentasi lainnya, termasuk juga pakan hewan, seperti silase. Bakteri ini bekerja secara metabolisme homofermentatif (hanya membentuk asam laktat dari gula).

Bakteri Bacillus merupakan bakteri yang mempunyai sel berbentuk batang dan dapat tumbuh pada kondisi semi-anaerob. Bakteri ini tahan terhadap panas (suhu tinggi) dan menghasilkan enzim ekstraseluler seperti protease, lipase, amilase, dan selulase yang bisa mampu menguraikan bahan organik jenis karbohidrat, protein, dan lemak. Bakteri Bacillus mampu tumbuh pada konsentrasi garam tinggi dan masih bekerja pada pH 7.3-10.5 bahkan beberapa dapat tumbuh hingga pH > 11. Bakteri ini menghasilkan asam laktat dan bacteriosins. *L. plantarum* mempunyai aktivitas laktase sangat tinggi, dan dapat menghasilkan dan melepaskan laktase melalui perut dan usus kecil, memfasilitasi pencernaan laktosa.

I.2 Rumusan dan Batasan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini antara lain :

Bagaimana pengaruh konsentrasi sel dan lama fermentasi terhadap kandungan proksimat pada tepung sagu modifikasi?

Adapun batasan penelitian ini antara lain :

1. Sagu yang digunakan adalah sagu Metroxylon sagu Rottb
2. Mikroorganisme yang digunakan untuk fermentasi adalah bakteri *Lactobacillus plantarum*.

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi sel dan lama fermentasi terhadap komposisi proksimatI pada tepung sagu modifikasi.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi sel dan lama fermentasi terhadap kadar amilosa pada tepung sagu modifikasi.
3. Mempelajari dekomposisi pati (amilosa dan amilopektin) serta pembentukan macam-macam jenis asam amino

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian antara lain:

1. Memberikan informasi tentang pembuatan tepung sagu modifikasi dengan cara fermentasi menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* beserta kandungan nutrisi yang dihasilkan
2. Menaikkan nilai dari tanaman sagu serta dapat memenuhi kebutuhan pangan nasional
3. Sebagai bahan referensi untuk mengembangkan penelitian tentang tepung sagu modifikasi di masa yang akan datang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Sagu

Sagu termasuk salah satu sumber karbohidrat yang penting untuk memenuhi kebutuhan kalori. Sehingga di beberapa daerah Indonesia bagian timur, sagu merupakan makanan pokok untuk mencukupi kebutuhan energi sebagaimana beras di daerah-daerah lain. Sagu diduga berasal dari Maluku dan Irian. Hingga saat ini belum ada data yang pasti yang mengungkapkan kapan awal mula sagu ini dikenal. Tanaman sagu dikenal dengan nama Kirai di Jawa Barat, bulung, kresula, bulu, rembulung, atau resula di Jawa Tengah; lapia atau napia di Ambon; tumba di Gorontalo; Pogalu atau tabaro di Toraja; rambiam atau rabi di kepulauan Aru (Prihatman, 2000).



Gambar II.1. Metroxylon sagu

II.1.1. Klasifikasi Tanaman Sagu

Sagu termasuk tumbuhan monokotil dari famili Palmae Jussieu, sub famili Calamoideae, genus Metroxylon, dan ordo Spadiciflorae. Keluarga Palmae yang memiliki kandungan pati cukup tinggi yaitu Metroxylon dan Arenga. Nama Metroxylon

berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari kata “metra” dan “xylon”. Metra berarti isi batang atau empulur dan xylon berarti xylem (Haryanto dan Pangloli, 1992).

Di Indonesia, masyarakat mengenal dua jenis penghasil tepung sagu utama, yaitu dari jenis *Metroxylon* dan jenis *Arenga* (sagu aren). Sagu aren tumbuh pada lahan relatif kering (banyak ditemukan di Jawa, Sumatera dan Kalimantan) dan kandungan tepungnya relatif lebih sedikit dibandingkan dengan sagu *Metroxylon*. Sagu *Metroxylon* biasanya dibagi dalam dua golongan, yaitu hanya berbunga atau berbuah sekali (*hapaxanthic*) dan yang berbunga atau berbuah lebih dari satu kali (*pleonanthic*).

Golongan pertama memiliki kandungan tepung yang relatif 1 bernilai ekonomi tinggi karena memiliki kandungan pati yang tinggi, seperti *Metroxylon longispinum* Martius, *Metroxylon rumpii* Martius, *Metroxylon micracantum* Martius, *Metroxylon sylvester* Martius dan *Metroxylon sagus* Rottbol., yang terdiri atas lima jenis atau species, yaitu *Metroxylon rumphii* Martius (sagu tuni), *Metroxylon sagus* Rottbol (sagu molat), *Metroxylon sylvester* Martius (sagu ihur), *Metroxylon longispinum* Martius (sagu makanaru), dan *Metroxylon micracanthum* Martius (sagu rotan).

Golongan kedua banyak tumbuh di daratan-daratan yang relatif lebih tinggi, tetapi kandungan tepungnya rendah. Golongan tanaman sagu tersebut terdiri dari species *Metroxylon filarae* dan *Metroxylon elatum*. Golongan *hapaxanthic* merupakan golongan sagu yang memiliki arti ekonomis penting karena mengandung karbohidrat lebih banyak dibanding dengan *pleonanthic* (Yosina dan Dina, 1998).

II.1.2 Botani Tanaman Sagu

Sagu adalah tanaman tahunan yang dapat berkembang biak atau dibiakkan dengan anakan atau dengan biji. Anakan sagu mulai membentuk batang pada umur sekitar 3 tahun. Kemudian pada sekitar pangkal batang tumbuh tunas yang berkembang menjadi anakan sagu. Anakan sagu tersebut memperoleh unsur hara dari

tanaman induknya sampai akar-akarnya mampu mengabsorbsi unsur hara sendiri dan daunnya mampu melakukan fotosintesis. Pola pertumbuhan sagu terus berlangsung demikian sehingga tumbuhan sagu membentuk rumpun (Haryanto dan Pangloli, 1992). Pada rumpun sagu rata-rata terdapat 1-8 batang, pada setiap pangkal batang tumbuh 5-7 batang anakan. Pada kondisi liar, rumpun sagu ini akan melebar dengan jumlah anakan yang banyak, dalam berbagai tingkat pertumbuhan anakan tersebut sedikit sekali yang tumbuh menjadi pohon dewasa .

Bagian terpenting dari tanaman sagu adalah batang sagu, karena batang merupakan tempat penyimpanan cadangan makanan (karbohidrat) yang dapat menghasilkan pati sagu. Ukuran dari batang sagu dan kandungan patinya tergantung dari jenis sagu, umur dan habitat pertumbuhannya. Batang sagu berbentuk silinder berdiameter sekitar 50 cm bahkan dapat mencapai 80-90 cm. Umumnya, diameter batang bagian bawah agak lebih besar daripada bagian atas. Batang bagian bawah umumnya juga mengandung pati yang lebih tinggi dari pada bagian atas (Haryanto dan Pangloli, 1992). Sagu memiliki batang teringgi pada umur panen, yakni 11 tahun ke atas. Pada tingkat umur ini perbedaan tinggi batang untuk setiap jenis sagu tidak jauh berbeda, tetapi pada umur dibawah 11 tahun perbedaannya sangat mencolok (Haryanto dan Pangloli, 1992). Batang sagu terdiri dari lapisan kulit bagian luar yang keras dan bagian dalam berupa empulur yang mengandung serat-serat aci. Tebal kulit luar yang keras sekitar 3 – 5 cm dan bagian ini di daerah maluku sering digunakan sebagai bahan bangunan. (Haryanto dan Pangloli, 1992).

Ciri-ciri pohon sagu yang kandungan patinya mencapai maksimum dan siap dipanen, yaitu apabila pangkal daun yang terletak di bawah pelepah daun berwarna kelabu biru (Ishak dkk., 1984). Setelah masa panen, sagu akan mengalami penurunan kandungan pati. Penurunan kandungan pati biasanya ditandai dengan mulai terbentuknya primordia bunga. Setelah melewati fase primordia, kandungan pati menurun karena digunakan sebagai energi untuk pembentukan bunga dan buah. Setelah pembungaan

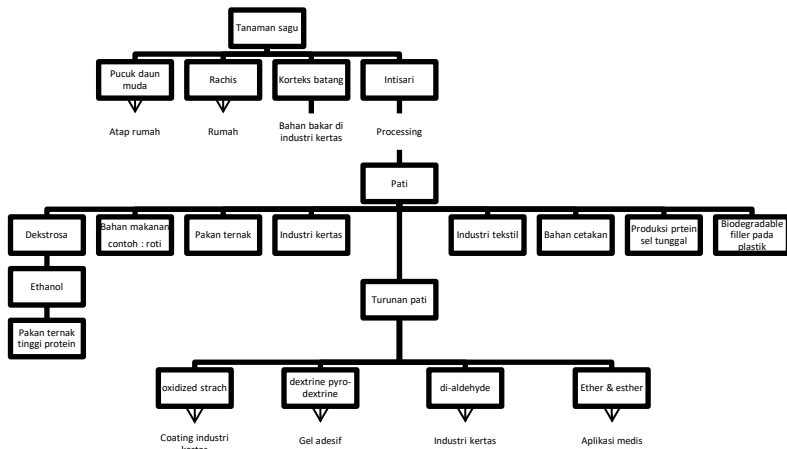
dan pembentukan buah, batang akan menjadi kosong dan tanaman sagu akan mati. Keadaan tersebut mempermudah petani dalam mengetahui rendemen pati sagu maksimal (Haryanto dan Pangloli, 1992).

Bagian lain yang berperan penting dalam pembentukan pati sagu adalah daun sebagai tempat fotosintesis. Pertumbuhan dan perkembangan daun yang baik akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan organ lainnya seperti batang, kulit dan empulur, sehingga pembentukan pati sagu dapat berlangsung optimal. Daun sagu berbentuk memanjang, agak lebar, berinduk tulang daun di tengah yang menyerupai daun kelapa. Sagu yang tumbuh pada tanah liat dengan penyinaran yang baik, pada umur dewasa memiliki 18 tangkai daun yang panjangnya sekitar 5-7 m. Dalam setiap tangkai terdapat sekitar 50 pasang daun yang panjangnya bervariasi antara 60-180 cm dan lebarnya sekitar 5 cm (Yosina dan Dina, 1998). Daun sagu muda umumnya berwarna hijau muda yang berangsur-angsur berubah menjadi hijau tua, kemudian berubah lagi menjadi cokelat kemerah-merahan apabila sudah tua atau matang (Haryanto dan Pangloli, 1992).

II.1.3 Pemanfatan Tanaman Sagu

Sagu memiliki berbagai manfaat, baik pemanfaatan dalam bidang pangan dan dalam bidang non pangan. Dalam bidang pangan, sagu dapat digunakan sebagai bahan makanan pokok bagi masyarakat, bahan pangan pembuatan kue dan dapat digunakan sebagai bahan paan tenak. Sedangkan sebagai bahan non-pangan sagu dapat diolah menjadi sagu mutiara, tepung campuran, pati termodifikasi, gula cair, asam amino, sorbitol, asam organik, bahan perekat, bahan parmasi dan bahan penyedap yang dapat dijadikan bahan baku untuk industri pangan. Karena kandungan pati yang sangat tinggi menjadikan pati sebagai bahan energi maupun sebagai bahan baku pembuatan plastik. Sebagai bahan energi tepung sagu dapat diolah menjadi etanol melalui proses hidrolisis dan fermentasi. Satu ton tepung sagu dapat menghasilkan 715 liter

etanol yang dapat digunakan sebagai pengganti bensin, penerangan rumah, untuk keperluan medis, keperluan berbagai industri kimia (Flach, 1997). Berbagai pemanfaatan tanaman sagu secara ringkas dapat tertera pada Gambar II.2.



Gambar II.2 Pemanfaatan Tanaman Sagu

II.1.4 Luas Areal Pertumbuhan Tanaman Sagu di Indonesia

Perkiraan luas area pohon sagu yang tersebar di berbagai daerah di Indonesia terlihat seperti pada Tabel II.1 di bawah ini. Indonesia memiliki lebih dari 90% luasan sagu di dunia, dengan 85%-nya terdapat di Provinsi Papua dan Papua Barat. Unit Percepatan Pembangunan Papua dan Papua Barat (UP4B), menyebutkan bahwa luas sagu dunia mencapai 6,5 juta ha pada 2014. Dari luas lahan tersebut, Indonesia memiliki pohon sagu seluas 5,5 juta ha dan dari luas lahan tersebut yang berada di Papua dan Papua Barat mencapai 5,2 juta ha. Dalam peta sebaran sagu menurut situs resmi Kementerian Pertanian, disebutkan bahwa pohon sagu yang hidup di hutan alam mencapai 1,25 juta ha.

Sedangkan pohon sagu yang merupakan hasil semi budidaya (sengaja ditanam/semi cultivation) mencapai 158.000 ha.

Tabel II.1. Jumlah Produksi Sagu di Indonesia

Daerah	Luas	
	Hutan Liar	Semi Budidaya
Papua	1.200.000 ha	34.000 ha
Maluku	50.000 ha	10.000 ha
Sulawesi		30.000 ha
Kalimantan		20.000 ha
Sumatera		30.000 ha
Kep. Riau		20.000 ha
Kep. Mentawai		10.000 ha

**) sumber : Unit Percepatan Pembangunan Papua dan Papua Barat*

Potensial pengembangan sagu cukup besar mengingat sagu termasuk tanaman yang tinggi daya penyesuaiannya terhadap lingkungan yang buruk yaitu dapat tumbuh pada kondisi tanah dimana tanaman lain tidak dapat hidup, tidak memerlukan pupuk dan sedikit memerlukan perawatan (Cecil dkk, 1982)

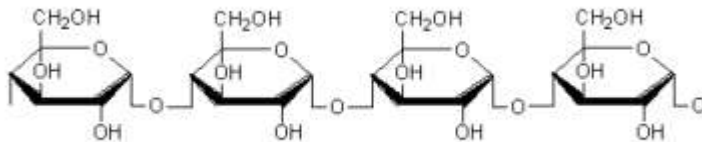
Tabel. II.2. Areal Lahan untuk Perluasan Areal Pertanian

Pulau	Lahan (ha)		
	Rawa	Non Rawa	Total
Sumatera	354.854	606.193	961.047
Jawa	0	14.393	14.393
Bali dan Nusa Tenggara	0	48.922	48.922
Kalimantan	730.160	665.779	1.395.939
Sulawesi	0	422.972	422.972
Maluku dan Papua	1.893.366	3.539.334	5.432.700
Indonesia	2.978.380	5.297.593	8.275.973

II.2. Pati

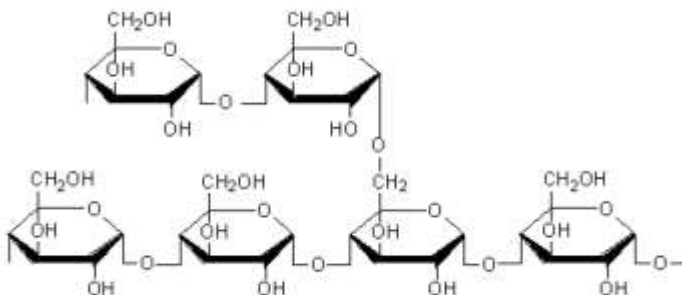
Istilah “pati” sering dicampuradukkan dengan “tepung” dan “kanji”. Sebenarnya pati adalah penyusun utama tepung. Tepung bisa saja tidak hanya mengandung pati, karena tercampur atau sengaja dicampur dengan protein, vitamin, pengawet, dan sebagainya. Pati ada banyak jenisnya, tergantung dari bahan apa pati itu dibuat. Ada yang berasal dari ketela, beras, jagung, kentang, gandum, sagu, dan lainnya.

Pati (starch) adalah karbohidrat kompleks yang mengandung dua macam polimer, yaitu amilosa dan amilopektin, dalam komposisi yang berbeda-beda.



Gambar II.3 Struktur Rantai Amilosa

Amilosa merupakan polisakarida, yaitu polimer yang tersusun dari glukosa sebagai monomernya. Setiap monomer terhubung dengan ikatan $-(1,4)$ glycosidic. Amilosa adalah polimer yang tidak bercabang. Dalam masakan, amilosa memberi efek keras bagi tepung atau pati.



Gambar II.4 Struktur Rantai Amilopektin

Amilopektin merupakan polisakarida yang tersusun dari monomer α -glukosa. Amilopektin merupakan molekul raksasa dan mudah ditemukan karena menjadi satu dari dua senyawa penyusun pati, bersama-sama dengan amilosa. Walaupun tersusun dari monomer yang sama, amilopektin berbeda dengan amilosa, yang terlihat dari karakteristik fisiknya. Secara struktural amilopektin terbentuk dari rantai glukosa yang terikat dengan ikatan $-(1,6)$ glycosidic, hal ini sama dengan yang terdapat pada amilosa. Namun demikian, pada amilopektin terbentuk cabang-cabang (sekitar tiap 20 mata rantai glukosa) dengan ikatan $-(1,4)$

glycosidic. Selain itu, berbeda dengan amilosa, amilopektin tidak akan larut dalam air.

Sifat pati tidak larut dalam air, namun bila suspensi pati dipanaskan akan terjadi gelatinisasi setelah mencapai suhu tertentu, yang disebut suhu gelatinisasi dari pati tersebut. Pemanasan menyebabkan energi kinetik molekul-molekul air menjadi lebih kuat daripada daya tarik-menarik antara molekul pati dalam granula, sehingga air dapat masuk kedalam pati tersebut dan pati akan membengkak (mengembang). Granula pati dapat membengkak luar biasa dan pecah sehingga tidak dapat kembali pada kondisi semula. Perubahan sifat ini disebut gelatinisasi (Winarno, 1997). Suhu gelatinisasi tergantung pada konsentrasi suspensi pati, semakin tinggi konsentrasi larutan (suspensi) pati, suhu gelatinisasi semakin lambat tercapai. Selain itu, suhu gelatinisasi tiap jenis pati berbeda-beda, antara 52 oC sampai 78 oC. Menurut Haryanto dan Pangloli (1992), suhu gelatinisasi pati sagu sekitar 60–72 oC, sedangkan menurut Wirakartakusumah dkk. (1984), suhu gelatinisasi pati sagu sekitar 72–90 oC.

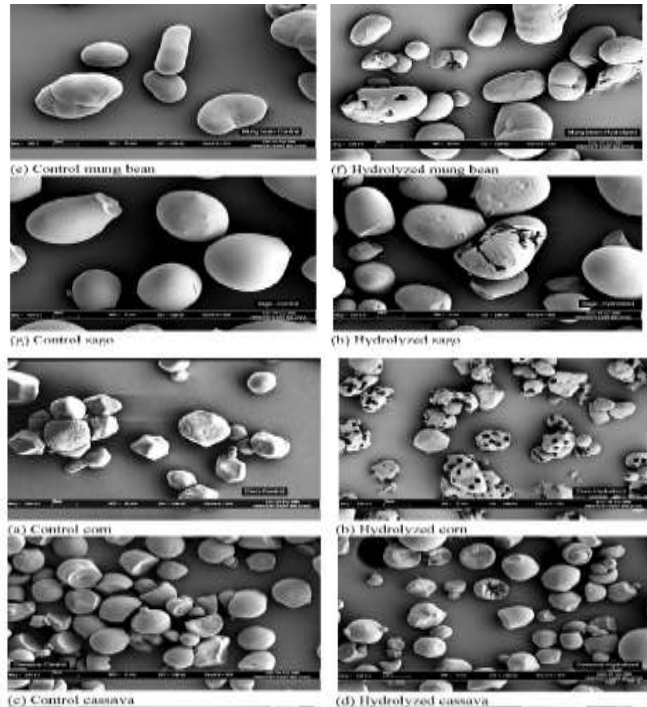
Pati sagu berbentuk elips (prolate ellipsoidal) berukuran 5– 80 Em, relatif lebih besar daripada pati serealialia (Wirakartakusumah dkk.,1984). Sagu memiliki kandungan karbohidrat, protein, lemak, serta kalori yang tinggi. Komposisi kandungan sagu tersebut dapat menjadi penyelamat pada saat terjadi rawan pangan, serta diversifikasi pangan. Komposisi kimia tiap 100 g pati sagu dan beberapa jenis bahan pangan lain dapat dilihat pada Tabel II.3

Tabel II.3. Komposisi Kimia Pati Beberapa Tanaman

Composition	Unit	Sagu	Beras	Jagung	Singkong	Kentang
Kalori	kal	357	366	349	98	71
Protein	g	0.2	0.4	9.1	0.7	1.7
Lemak	g	0.2	0.8	4.2	0.1	0.1
Karbohidrat	%	94	80.4	71.7	23.7	23.7
Kalsium	mg	10	24	14	19	8
Besi	mg	1.2	1.9	2.8	0.6	0.7
Teomin	mg	0.01	0.1	0.29	0.04	0.09
Riboflavin	mg	-	0.05	0.11	0.03	0.03
Niasin	mg	-	2.1	2.1	0.4	1.4
Vitamin	mg	-	0	0	21	16

*) Sumber : Direktorat Gizi Departemen Kesehatan, 1995

Pati sagu dalam bentuk aslinya merupakan butiran kecil yang disebut granula. Granula masing-masing spesies memiliki karakter ukuran, bentuk, dan ciri-ciri tersendiri. **Gambar II.5** memperlihatkan bentuk granula dari berbagai jenis pati yang berbeda menggunakan SEM (Scanning Electron Microscopy).



Gambar II.5. SEM Granula Pati Beberapa Tanaman

Dibandingkan dengan granula pati lain, pati sago berbentuk oval dengan ukuran yang cukup besar yaitu 20-60 mikron. Dan juga memiliki suhu gelatinasi yang cukup tinggi yaitu sekitar 69oC (Cecil dkk., 1982)

Pati sago dapat diperoleh dari empulur batang sago dengan cara ekstraksi. Empulur batang dihancurkan kemudian dicampur air yang bertindak sebagai carrier, lalu diperas dan disaring. Kemudian pati yang terdapat dalam filtrat diendapkan (Ishak dkk., 1984).

Pati sago mengandung 27% amilosa dan 73% amilopektin (Wirakartakusumah dkk., 1984). Berbagai macam pati tidak sama

sifatnya, tergantung dari panjang rantai karbonnya. Perbandingan komposisi kadar amilosa dan amilopektin juga akan mempengaruhi sifat pati. Apabila kadar amilosa pada pati semakin tinggi, maka pati bersifat kering, kurang lekat dan higroskopis atau mudah menyerap air (Haryanto dan Pangloli, 1992)

Perbandingan amilosa dan amilopektin mempengaruhi sifat kelarutan dan derajat gelatinisasi pati, semakin besar kandungan amilosa maka pati akan bersifat lebih kering, kurang lekat dan cenderung menyerap air lebih banyak. Dua fraksi penyusun granula pati dapat dipisahkan dengan air panas di bawah suhu gelatinisasi. Fraksi terlarut dalam air panas adalah amilosa dan fraksi yang tidak larut adalah amilopektin (Hodge dan Osman, 1976)

Granula pati sagu berkisar antara 15 – 63 mikron dan kebanyakan berukuran antara 20 – 60 mikron dengan bentuk oval atau berbentuk telur dan sebagian diantaranya memiliki ujung yang rata atau pepat (Moos, 1976) dalam (BPPT, 2008). Menurut Flach (1983), granula pati memiliki diameter sel berkisar antara 40 – 50 mikron. Sedangkan menurut Wirakartakusumah dkk., (1984) pati sagu menunjukkan ukuran yang lebih besar yaitu 5 – 80 mikron.

Suhu gelatinisasi pati sagu relatif lebih tinggi jika dibandingkan dengan pati lainnya yaitu sekitar 69 oC. Menurut Hariyadi (1984) suhu gelatinisasi pati sagu mempunyai kisaran, yaitu suhu awal gelatinisasi pati sagu (rasio air dan tepung 5/1, 10 oC permenit) adalah 64.3 oC, suhu puncak gelatinisasi adalah 76.4 oC dan suhu akhir gelatinisasi tercapai pada 82.3 oC.

Pati sagu mempunyai daya mengembang sebesar 97 persen. Pengembangan granula pati bersifat reversible (bolak balik) bila tidak melewati suhu gelatinisasi dan bersifat irreversible bila telah mencapai suhu gelatinisasi. Suhu gelatinisasi merupakan sifat khas untuk masing-masing pati, suhu ini diawali dengan pengembangan yang irreversible granula pati dalam air panas dan diakhiri pada waktu kehilangan sifat kristalnya Mc Cready (1970) diacu dalam BPPT (2008)

Untuk proximate komposisi sagu dari beberapa sumber, tertera pada Tabel II.4

Tabel II.4 Komposisi Proksimat Sagu dari Beberapa Jurnal

Komponen	Jurnal ^a	Jurnal ^b	Jurnal ^c	Jurnal ^d
Moisture	10.6 %	15.8 %	-	9.7 %
Abu	0.07 %	1.56 %	-	0.1 %
Lemak	0.1 %	0.8 %	0.2 gr	-
Protein	0.25 %	0.12 %	1.4 gr	0.1 %
Serat	0.28 %	0.63 %	-	0.1 %
Karbohidrat	-	81.73 %	85.9 %	-
Pati		72.16 %	-	78.5 %
Amilosa		23.97 %	-	44.4 %
Amilopektin		48.2 %	-	-
Aqueous pH	5.3	-	-	4.98

*)Sumber : ^a F.B. Ahmad dkk., 1999 ;

^b Liestianty dkk, 2016 ;

^c Direktorat Gizi Departemen Kesehatan, 1995;

^d Khatijah, 1995

II.3. Hidrolisa

Secara umum, pati terbagi menjadi dua kelompok yaitu pati asli dan pati termodifikasi. Pati termodifikasi adalah pati yang gugus OH-nya telah mengalami perubahan melalui reaksi kimia. Memodifikasi pati dianggap penting karena sebagian besar penggunaannya adalah dalam bentuk terlarut ataupun terdispersi dalam air dengan perlakuan temperatur. Dengan demikian adsorpsi pati terhadap kandungan air menjadi signifikan.

Proses modifikasi pati yang sering digunakan antara lain melalui hidrolisis, oksidasi, dan esterifikasi. Prinsip kimianya adalah pengubahan dengan monimer atau polimer. Pati yang telah termodifikasi akan mengalami perubahan sifat yang dapat disesuaikan dengan keperluan-keperluan tertentu.

Hidrolisis adalah proses dekomposisi kimia dengan menggunakan air untuk memisahkan ikatan kimia dari substansinya. Hidrolisis pati merupakan proses pemecahan molekul amilum menjadi bagian-bagian penyusunnya yang lebih sederhana (Purba, 2009)

Hidrolisis secara enzimatis memiliki perbedaan mendasar dengan hidrolisis secara asam. Hidrolisis secara asam memutus rantai pati secara acak, sedangkan hidrolisis secara enzimatis memutus rantai pati secara spesifik pada percabangan tertentu. Hidrolisis secara enzimatis lebih menguntungkan dibandingkan hidrolisis asam, karena prosesnya lebih spesifik, kondisi prosesnya dapat dikontrol, biaya pemurnian lebih murah, dan kerusakan warna dapat diminimalkan (Virlandi, 2008). Selain terdapat beberapa perbedaan antara hidrolisa asam dan hidrolisa pati seperti yang tertera pada Tabel II.5

Tabel II.5 Perbandingan hidrolisa asam dan hidrolisa enzimatis

Variabel Pemanding	Hidrolisa	Hidrolisa
	Asam	Enzimatis
Kondisi hidrolisis yang lunak (mild)	Tidak	Ya
Hasil hidrolisis tinggi	Tidak	Ya
Penghambatan produk selama hidrolisis	Tidak	Ya
Pembentukan produk samping yang menghambat	Ya	Tidak
Katalis yang murah	Ya	Tidak
Waktu hidrolisis yang murah	Ya	Tidak

Pada proses hidrolisis pati, terdapat tiga tahapan dalam mengkonversi pati yaitu tahap gelatinisasi, likuifikasi dan sakarifikasi (Shi dkk., 2000). Tahap gelatinisasi merupakan tahap pembentukan suspensi kental dari granula pati, tahap likuifikasi yaitu hidrolisis pati parsial yang ditandai dengan menurunnya viskositas, sedangkan sakarifikasi merupakan proses lebih lanjut dari hidrolisis untuk menghasilkan glukosa.

Proses hidrolisis enzimatis dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: Enzim, ukuran partikel, Suhu, pH, waktu hidrolisis, perbandingan cairan terhadap bahan baku (volume substrat), dan pengadukan. Enzim yang dapat digunakan adalah α -amilase, β -amilase, amiloglukosidase, glukosa isomerase, pullulanase, dan isoamilase. Enzim yang biasa digunakan untuk proses hidrolisa secara sinergis adalah enzim α -amylase dan enzim glukaoamilase. Enzim α -amylase akan memotong ikatan amilosa dengan cepat pada pati kental yang telah mengalami gelatinisasi. Kemudian enzim glukaoamilase akan menguraikan pati secara sempurna menjadi glukosa pada tahap sakarifikasi (Purba, 2009)

Hidrolisis asam (acid thinning) merupakan hidrolisis ikatan glikosida secara acak menghasilkan fragmen dengan derajat polimerisasi lebih rendah, menurunkan viskositas panas, meningkatkan kekuatan gel, meningkatkan kejernihan gel atau pasta. Hidrolisis asam dapat dilakukan dengan cara kering atau basah. Asam yang digunakan HCl, H₂SO₄. Proses hidrolisis lebih cepat terjadi pada konsentrasi asam tinggi dan atau suhu tinggi. Proses kering menghasilkan dekstrin yang lebih larut dengan viskositas lebih rendah, lebih higroskopis, lebih lengket dan membentuk film (sebagai coating). Pati yang telah mengalami perlakuan asam banyak digunakan pada produk candy khususnya sugered candy.

Wurzburg (1989) menyatakan bahwa pati termodifikasi asam dibuat dengan menghidrolisa pati dengan asam di bawah suhu gelatinisasi, pada suhu sekitar 125oF (52oC). Reaksi dasar meliputi pemotongan ikatan α -1,4-glikosidik dari amilosa dan α -1,6-glikosidik dari amilopektin, sehingga ukuran molekul pati menjadi lebih rendah dan meningkatkan kecenderungan pasta untuk membentuk gel. Pati termodifikasi asam memiliki viskositas pasta panas lebih rendah, kecenderungan retrogradasi lebih besar, ratio viskositas pasta pati dingin dari pasta pati panas lebih rendah, granula yang mengembang selama gelatinisasi dalam air panas lebih rendah, peningkatan stabilitas dalam air hangat di bawah suhu gelatinisasi dan bilangan alkali lebih tinggi.

Modifikasi pati dengan asam dapat menurunkan viskositas pasta panas, menurunkan kekerasan dan kekuatan gel. Pemberian asam akan menyebabkan penurunan viskositas pasta panas yang lebih cepat daripada penurunan kekuatan gel. Perbandingan viskositas pasta panas dengan kekerasan dan kekuatan penghancuran gel dari pati termodifikasi asam dengan pati tidak termodifikasi akan meningkat dengan meningkatnya pemberian asam. Bila kekuatan pembentukan gel didefinisikan sebagai perbandingan antara viskositas pasta panas dengan viskositas pasta dingin pada kondisi standar pati termodifikasi asam yang mempunyai fluiditas yang sama, maka kekuatan pembentukan gel

meningkat dengan meningkatnya konsentrasi asam dan menurunnya waktu perlakuan, sebaliknya jika konsentrasi asam menurun dan waktu reaksi meningkat maka kekuatan pembentukan gel akan meningkat.

II.4. Fermentasi

Fermentasi pada awalnya hanya menunjukkan pada suatu peristiwa alami pada pembuatan anggur yang menghasilkan buih (ferment berarti buih). Beberapa ahli mendefinisikan kata fermentasi dengan pengertian yang berbeda. Fardiaz (1992) mendefinisikan fermentasi sebagai proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu. Satiawihardja (1992) mendefinisikan fermentasi dengan suatu proses dimana komponen-komponen kimiawi dihasilkan sebagai akibat adanya pertumbuhan maupun metabolisme mikroba. Pengertian ini mencakup fermentasi aerob dan anaerob.

Fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi bahan yang berkualitas rendah serta berfungsi dalam pengawetan bahan dan merupakan suatu cara untuk menghilangkan zat antinutrisi atau racun yang terkandung dalam suatu bahan makanan.

Fermentasi secara umum dibagi menjadi 2 model utama yaitu fermentasi media cair (liquid state fermentation, LSF) dan fermentasi media padat (solid state fermentation, SSF) . Fermentasi media cair diartikan sebagai fermentasi yang melibatkan air sebagai fase kontinu dari sistem pertumbuhan sel bersangkutan (Satiawiharja, 1992) atau substrat baik sumber karbon maupun mineral terlarut atau tersuspensi sebagai partikel-partikel dalam fase cair. Fermentasi media padat merupakan proses fermentasi yang berlangsung dalam substrat tidak terlarut, namun mengandung air yang cukup sekalipun tidak mengalir bebas (Dharma, 1992). Dalam fermentasi tradisional baik fermentasi medium cair maupun medium padat telah lama dikenal. Fermentasi

cair meliputi fermentasi minuman anggur dan alkohol, fermentasi asam cuka, yogurt dan kefir. Fermentasi media padat seperti fermentasi tape, oncom, kecap, tape dan silase.

II.5. Lactobacillus plantarum

Lactobacillus plantarum adalah bakteri gram-positif, yang tidak membentuk spora. Bakteri ini bersifat homofermentatif yang sering berupa asam laktat dalam jumlah tinggi pada fermentasi. dinamakan demikian karena kebanyakan anggotanya dapat mengubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat.



Gambar II.6 Lactobacillus plantarum

Klasifikasi bakteri Lactobacillus plantarum adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Famili	: Lactobacillaceae
Genus	: Lactobacillus
Spesies	: Lactobacillus plantarum

Lactobacillus plantarum berbentuk batang (0,5-1,5 hingga 1,0-10 μm) dan tidak bergerak (non motil). Bakteri ini memiliki

katalase negatif, aerob atau fakultatif anaerob, mampu mencairkan gelatin, cepat mencerna protein, tidak mereduksi nitrat, toleran terhadap asam, dan mampu memproduksi asam laktat. Dalam media agar, *Lactobacillus plantarum* membentuk koloni berukuran 2-3 mm, berwarna putih, dan dikenal sebagai bakteri pembentuk asam laktat.

Lactobacillus plantarum mampu merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan hasil akhirnya yaitu asam laktat. Asam laktat dapat menghasilkan pH yang rendah pada substrat sehingga menimbulkan suasana asam. *Lactobacillus plantarum* dapat meningkatkan keasaman sebesar 1,5 sampai 2 % pada substrat. Dalam keadaan asam, *L. plantarum* memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk.

Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dapat menghambat kontaminasi dari mikroorganisme patogen dan penghasil racun karena kemampuannya untuk menghasilkan asam laktat dan menurunkan pH substrat, selain itu dapat menghasilkan hidrogen peroksida yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. *Lactobacillus plantarum* juga mempunyai kemampuan untuk menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai zat antibakteri. (Danisco A/S)

II.6. Tepung Sagu

Tepung sagu adalah tepung yang berasal dari teras batang pohon sagu. Tepung sagu biasa digunakan sebagai salah satu bahan baku kue atau panganan lainnya. Pembuatan kue, sagu biasanya digunakan sebagai bahan pengental karena tepung ini bersifat lengket. Tepung sagu kaya dengan karbohidrat (pati) namun sangat miskin gizi lainnya. Ini terjadi akibat kandungan tinggi pati di dalam teras batang maupun proses pemanenannya. Seratus gram sagu kering setara dengan 355 kalori. Dalamnya rata-rata terkandung 94 gram karbohidrat, 0,2 gram protein, 0,5 gram serat, 10mg kalsium, 1,2mg besi, dan lemak, karoten, tiamin, dan asam askorbat dalam jumlah sangat kecil. Tepung sagu memiliki prospek pengembangan yang bagus untuk dikembangkan di Indonesia,

pertama dilihat dari jumlah ketersediaan sagu yang berlimpah sehingga kemungkinan kelangkaan produk sangat minim karena tidak bergantung pada bahan impor seperti gandum. Kedua yaitu harga dari tepung sagu itu sendiri yang lebih murah dibanding dengan harga tepung terigu pada umumnya, sehingga biaya pembuatan produk dapat lebih rendah.

Tabel II.6 Syarat Mutu Tepung Sagu dan Tepung Terigu

Parameter	Tepung Sagu	Tepung Terigu ¹⁾
Air (%)	Maks 13	Maks 14.5
Protein (%)	Min 0,7	Min 7.0
Abu (%)	Maks 0,5	Max 0.7
Serat (%)	Maks 0,1	Maks 2.0
Derajat Asam	Maks 4.0 (mg KOH/ 100 g)	Maks 5.0 (mg KOH / 100 g)
HCN (mg/kg)	Maks. 40	Maks. 10
Residu Pestisida	-	-
Logam Berat	-	-
Bahan Tambahan	-	-

*sumber : SNI

II.7. Pati Tahan Cerna

Pati tahan cerna atau yang disebut dengan Resistance Starch (RS) ditemukan pertama kali oleh Englyst dkk. (1982) dan didefinisikan sebagai fraksi pati yang tahan terhadap hidrolisis enzim pencernaan. Karena pati banyak dijumpai dalam saluran pencernaan serta sedikit difermentasi oleh mikroflora usus, RS sering diidentifikasi sebagai fraksi pati makanan yang sulit dicerna di dalam usus halus sehingga memiliki fungsi untuk kesehatan. RS memiliki sifat seperti halnya serat makanan, sebagian serat bersifat tidak larut dan sebagian lagi merupakan serat yang larut. Beberapa sumber karbohidrat seperti gula dan pati dapat dicerna dan diserap secara cepat di dalam usus halus dalam bentuk glukosa, yang selanjutnya diubah menjadi energi. RS masuk ke dalam usus besar seperti halnya serat makanan.

Secara umum, pati dapat dikelompokkan menjadi pati yang dapat dicerna dengan cepat atau rapid digestible starch (RDS), dan pati yang memiliki daya cerna lambat atau slowly digestible starch (SDS). Contoh RDS yaitu beras dan kentang yang telah dimasak serta beberapa sereal instan siap saji, dan contoh SDS adalah pati sereal, produk pasta, dan RS, yaitu pati yang sulit dicerna di dalam usus halus (Englyst dkk. 1992).

RS dapat diklasifikasikan menjadi empat tipe, yaitu RS1, RS2, RS3, dan RS4. RS1 secara fisik dapat diperoleh secara langsung, seperti pada biji-bijian atau leguminosa dan biji yang tidak diproses. RS2 secara alami terdapat di dalam struktur granula, seperti kentang yang belum dimasak, juga pada tepung pisang dan tepung jagung yang mengandung banyak amilosa. RS3 terbentuk karena proses pengolahan dan pendinginan, seperti pada roti, emping jagung dan kentang yang dimasak atau didinginkan, atau retrogradasi amilosa jagung. RS4 merupakan pati hasil modifikasi secara kimia melalui asetilasi dan hidroksipropilasi maupun pati ikatan silang sehingga tahan dicerna.

Granula RS dapat diproduksi melalui cara yang unik dengan memanfaatkan bahan tambahan lain seperti enzim, serat makanan, distribusi berat molekul yang spesifik, penggunaan suhu

tinggi, serta penggunaan suhu gelatinisasi yang tinggi sebagai indikasi kesempurnaan proses. Pati RS dapat diproduksi dari pati yang mengandung amilose minimal 40%

RS mengandung cukup banyak amilosa sehingga mempunyai efek yang baik bagi saluran pencernaan dan metabolisme tubuh dalam proses manajemen glikemik dan energi. Secara garis besar, RS mempunyai tiga sistem terkait dengan efek metabolisme dan nilai fungsional dalam tubuh, yaitu sebagai bahan untuk fortifikasi serat, penurunan kalori, dan oksidasi lemak. Sebagai bahan untuk fortifikasi serat, RS dapat diperoleh dengan cara mengonsumsi bahan pangan sumber RS, seperti roti, biskuit, kembang gula, pasta, dan sereal. Pada tahun 2003, WHO mendeklarasikan bahwa serat pangan dapat menurunkan berat badan dan kegemukan. Hal ini terkait dengan pengendalian sistem hormon untuk mencerna makanan dan mengendalikan rasa lapar (WHO 2003; Slavin 2005).

Sebagai bahan untuk mereduksi kalori, RS dapat menurunkan energi lebih cepat

dibandingkan dengan tepung maupun produk karbohidrat lainnya. RS alami menghasilkan energi 2–3 kkal/g (8–12 kJ/g), sedangkan tepung menghasilkan energi 4 kkal/g (16 kJ/g)

Sebagai bahan untuk oksidasi lemak, RS dapat membakar lemak sehingga menurunkan jumlah lemak yang disimpan dalam tubuh. Hasil penelitian menunjukkan,

mengonsumsi RS asal jagung dapat menaikkan oksidasi lemak. Hal ini terkait dengan proses metabolisme karbohidrat dan protein dalam tubuh (Higgins et al. 2004). Hasil penelitian Younes et al. (1995) dengan menggunakan tikus percobaan, menunjukkan bahwa RS memiliki kemampuan menurunkan kadar lemak.

Mengonsumsi RS juga dapat menurunkan kandungan gula darah. RS akan melepaskan energi pada usus halus dalam bentuk glukosa yang kemudian difermentasi di dalam usus besar. RS menghasilkan energi dengan proses yang cukup lambat sehingga tidak segera dapat diserap dalam bentuk glukosa. RS menurunkan

efek glisemik serta sensitif terhadap hormon insulin sehingga dapat menurunkan potensi diabetes tipe 2.

RS alami juga dapat meningkatkan kesehatan usus besar terkait dengan proses pencernaan. RS juga memengaruhi mikroba yang terdapat dalam saluran pencernaan, terutama yang berhubungan dengan proses fermentasi dalam tubuh. Salah satu hasil metabolisme mikroba tersebut adalah butirir yang mempunyai efek antiinflamasi dan antikarsinogenik yang pada akhirnya dapat mencegah kanker pada usus besar

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

III.1 Variabel Penelitian

Waktu Fermentasi :
12, 24 dan 36 jam
Jumlah bakteri :
 7×10^{10} , 7×10^{11} , $1,05 \times 10^{12}$, dan $3,5 \times 10^{12}$ sel
Lactobacillus plantarum

III.2 Kondisi Operasi

1. Suhu Fermentasi : 32°C
2. Tekanan : 1 atm
3. Singkong yang digunakan : 150 gram (tiap variabel)

III.3 Respon

1. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*
2. Grafik Kadar Protein
3. Grafik Kadar Pati
4. Kadar Amilosa Dan Amilopektin

III. 4 Bahan yang Digunakan

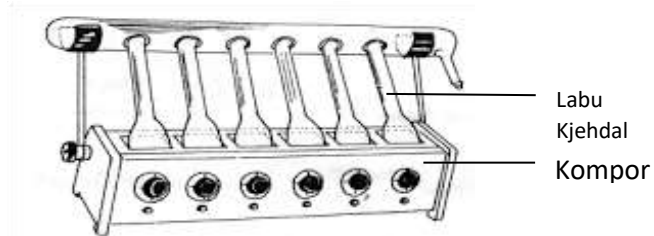
1. Sagu (Metroxylon sagu)
2. Aquadest
3. Lactobacillus plantarum
4. Media Nutrient Broth Agar
5. Indikator PP
6. Indikator MM
7. Reagen Arsenomolidad
8. Tablet Kjehdal
9. Larutan HCl 25%
10. Larutan NaOH 40%
11. Larutan NaOH 45%
12. Larutan NaOH 0,1 N
13. Larutan NaOH 0,2 N
14. Larutan NaOH 1 N
15. Larutan H₂SO₄ pekat
16. Larutan H₂SO₄ 0,1 N
17. Larutan ethanol 95%
18. Larutan CH₃COOH 1 N
19. Larutan iod

III. 5 Alat yang Digunakan

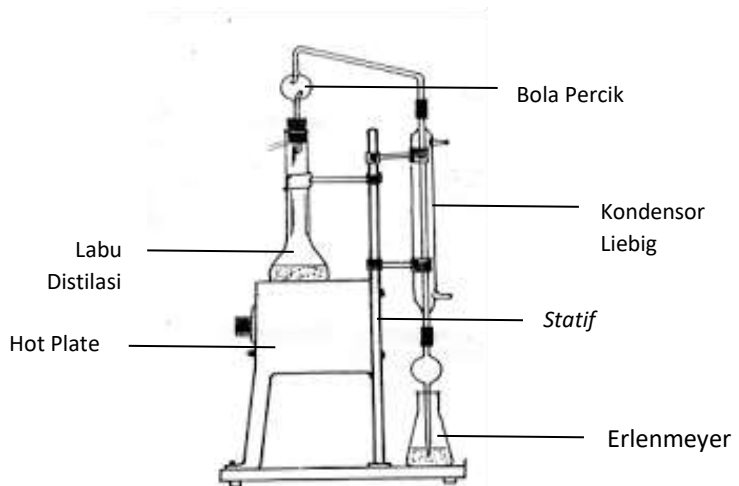
1. Neraca analitis
2. Beaker glass
3. Gelas ukur
4. Autoclaf
5. Pipet ukur
6. Jarum ose
7. Tabung reaksi
8. Botol fermentasi
9. Inkubator shaker
10. Spatula

11. Gelas arloji
12. Oven
13. Crusher
14. Hemasitometer
15. Pipet tetes
16. Deck glass
17. Mikroskop
18. Elenmeyer
19. Botol pencuci
20. Eksikator
21. Water bath
22. Hot plate
23. Termometer
24. Stirer
25. Spektrofotometer
26. Labu Kjeldahl
27. Pemanas labu Kjeldahl
28. Labu distilasi
29. Sumbat karet
30. Statif
31. Klem Holder
32. Kondensor liebigh
33. Buret
34. Soklet
35. Kondensor reflux
36. Labu alas bulat
37. Fluorometer
38. Labu takar
39. Spatula
40. Cruss tang
41. Corong buchner
42. Petridish
43. Pengaduk kaca

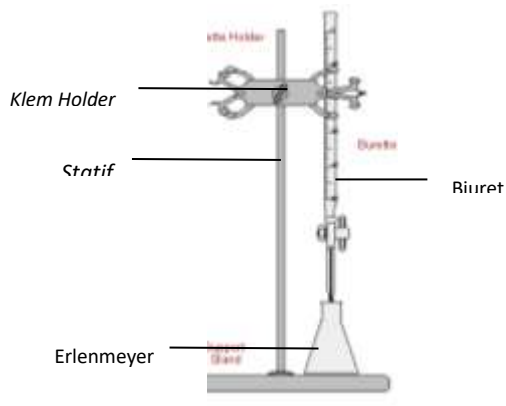
III. 6 Gambar Alat



Gambar III.1 Rangkaian Alat Dekstruksi Protein



Gambar III.2 Rangkaian Alat Distilasi



Gambar III.3 Rangkaian Alat Titration



(a)



(b)



(d)



(e)



(f)



(g)

Gambar III.4 (a) *Incubator Shaker* (b) Inkubator (c) Oven (d) Hemasitometer (e) Mikroskop (f) *Centrifuge* (g) Botol fermentasi

III.7 Prosedur Penelitian

III.7.1 Pembuatan Sagu Modifikasi

III.7.1.1. Persiapan Bahan

Menimbang sagu sebanyak 150 gram untuk tiap variabel menggunakan neraca analitik kemudian disimpan dalam plastik sample

III.7.1.2 Pembuatan Suspensi

Suspensi bakteri dibuat dengan menginokulasikan 1 loop *Lactobacillus plantarum* pada 1 mL aquadest menggunakan metode tusuk, yakni dengan mengambil biakan bakteri dari media NBA menggunakan ose kemudian mencelupkannya pada aquades di dalam tabung reaksi. Setelah itu, dilakukan pengenceran hingga 10x. Penambahan air sebagai pengenceran bisa dilakukan hingga bahan terendam oleh suspensi. Kemudian suspensi diinkubasi hingga jumlah sel mikroorganisme mencapai 7×10^{10} , 7×10^{11} , $1,05 \times 10^{12}$, dan $3,5 \times 10^{12}$ sel

III.7.1.3 Proses Fermentasi

Sagu yang sudah ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam botol fermentasi. Kemudian larutan suspensi ditambahkan ke dalamnya dan diinkubasi dalam inkubator sesuai dengan waktu yang ditentukan pada variabel, yaitu 12, 24, dan 36 jam. Pada proses fermentasi ini, suhu dijaga agar konstan, yaitu pada 32°C. Untuk satu variabel, pati sagu yang digunakan sebanyak 150 gr dengan penambahan starter sesuai variabel.

II.7.1.4 Proses Pencucian

Setelah sagu selesai difermentasi, sagu dicuci menggunakan larutan NaCl 1%. Larutan NaCl digunakan dalam proses ini karena garam mempunyai sifat bakteriosid (daya membunuh) dan bakterio-statik (daya menghambat). Aksi osmotik larutan garam berperan untuk menghambat kegiatan bakteriologis dan enzimatis karena dapat meningkatkan tekanan osmotik substrat yang menyebabkan terjadinya penarikan air dari dalam

sel mikroorganisme sehingga sel akan kehilangan air dan mengalami pengerutan hal ini menyebabkan aktifitas mikroorganisme terhambat. Penggunaan larutan garam 1% dikarenakan *Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri halofil yang memiliki ketahanan kadar garam sebesar 1-4%. Dan tidak terlalu pekat karena apabila terlalu pekat maka dapat menyebabkan protein mikroba ter-denaturasi (Amalia, 2016).

II.7.1.5 Proses Pemisahan

Setelah sagu dicuci menggunakan larutan garam, sagu dengan air pencuci dipisahkan menggunakan kertas saring karena ukuran partikel tepung sagu yang relatif kecil.

III.7.2. Perhitungan Jumlah Sel Mikroorganisme

Perhitungan jumlah sel mikroorganisme ini menggunakan metode *counting chamber*. Pertama-tama, mengambil 1 ml sampel. Kemudian melarutkannya dalam 10 ml aquadest ke dalam tabung reaksi dan mengaduknya hingga homogen.

Selanjutnya, sampel diambil menggunakan pipet tetes dan ditetaskan pada *counting chamber* kemudian ditutup dengan *deck glas*. Setelah itu, *counting chamber* diletakkan di bawah mikroskop yang dilanjutkan dengan menghitung jumlah sel yang terdapat pada kotak A, B, C, D dan E.

Dengan menggunakan rumus :

- a. $\text{jumlah sel bakteri rata - rata} = \frac{\text{jumlah sel ABCDE}}{5}$
- b. $\text{jumlah sel bakteri} = (a) \times \frac{1}{0.0025 \text{ (luas bidang hitung)}} \frac{\text{sel}}{\text{mm}^2}$
- c. $\text{jumlah sel bakteri} = \frac{(b)}{0.1 \text{ ketebalan counting chamber}} \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3}$
- d. $\text{jumlah sel} \frac{\text{bakteri}}{\text{mL}} \text{ sample} = (c) \times 1000 \frac{\text{sel}}{\text{ml sample}}$

III.7.3. Analisa Kadar Pati (AOAC, 2005)

Untuk menganalisa kadar pati, mula-mula 2 gram sampel ditambah dengan 50 mL aquades dan diaduk selama 1 jam. Selanjutnya, padatan disaring menggunakan kertas saring dan dicuci dengan menggunakan aquades sampai menghasilkan 250 mL; filtrat dan residu yang tertinggal pada kertas saring dicuci dengan 10 mL dietil eter. Selanjutnya melakukan pencucian lagi menggunakan 150 mL etanol 10%. Residu pada kertas saring dipindahkan dalam erlenmeyer dengan pencucian menggunakan 200 mL aquades dan ditambahkan 20 mL HCl kemudian dipanaskan di atas titik didihnya dengan *water bath* selama 2.5 jam. Setelah didinginkan, sampel dinetralisasi dengan 500 mL larutan NaOH 45% dan disaring dengan kertas saring. Selanjutnya, kandungan gula pada filtrat dianalisa menggunakan metode Nelson-Somogyi. Dari metode tersebut, didapatkan *glucose content*. Persentase pati dapat ditentukan dengan mengalikan *glucose content* dengan 0.9 (*factor number*).

III.7.4 Analisa Kadar Amilosa

Sampel ditimbang 100 mg sampel dalam bentuk tepung dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1N. Dipanaskan dalam air mendidih 10 menit sampai terbentuk gel dan didinginkan. Gel dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan volume ditepatkan dengan aquadest sampai tanda tera. Dipipet 5 mL larutan, masukkan dalam labu takar 100mL tambahkan asam asetat 1N, 2 mL larutan iod dan aquadest sampai 100 ml. Labu dikocok sampai homogen dan didiamkan selama 20 menit. Intensitas warna biru yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm.

III.7.5. Analisa Kadar Amilopektin

Analisis kadar amilopektin menggunakan metode by different dari hasil analisis pati dan amilosa sebelumnya.

Kadar amilopektin (%b/b) = kadar pati (%) – kadar amilosa (%)

III.7.6. Analisa Kadar Protein (AOAC, 2005)

Untuk analisa kadar protein, sebanyak 0.5 gram sampel dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl kemudian ditambahkan tablet Kjeldahl sebanyak $\frac{1}{4}$ bagian dan ditambah lagi dengan 10 ml H₂SO₄ pekat. Setelah itu, labu tersebut dipanaskan dengan pemanas labu Kjeldahl dalam ruang asam. Pemanasan dihentikan jika larutan sudah tidak berasap dan warna larutan menjadi hijau/kuning jernih (sekitar 1,5 jam). Kemudian labu kjeldahl dibiarkan sampai dingin.

Selanjutnya, memasukkan 50 mL aquades ke dalam labu distilasi yang telah diisi dengan batu didih (pecahan kaca) kemudian menuangkan larutan yang ada di dalam labu Kjeldahl ke dalam labu destilasi. Labu Kjeldahl dibilas dengan 50 ml aquades sedikit demi sedikit. Tahapan proses berikutnya adalah menambahkan 30 mL larutan NaOH 40% sedikit demi sedikit lalu ditutup dengan sumbat karet dan digoyang-goyang secara pelan (usahakan tidak ada uap yang keluar dari labu destilasi). Kemudian, sebanyak 25 mL H₂SO₄ 0.1 N dan 3 tetes indikator metil merah dimasukkan ke dalam erlenmeyer.

Setelah itu, larutan di dalam labu didistilasi hingga larutan dalam labu distilasi tinggal 1/3 bagian. Uap NH₃ yang keluar ditampung di dalam erlenmeyer yang berisi larutan H₂SO₄ yang telah ditetesi indikator. Kemudian hasil distilasi yang ditampung dalam erlenmeyer dititrasi menggunakan NaOH 0.1 N sampai terjadi perubahan warna dari merah muda ke jingga.

Membuat blanko yang terdiri dari larutan 25 mL H₂SO₄ 0.1 N dan 3 tetes indikator metil merah kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0.1 N hingga terjadi perubahan warna.

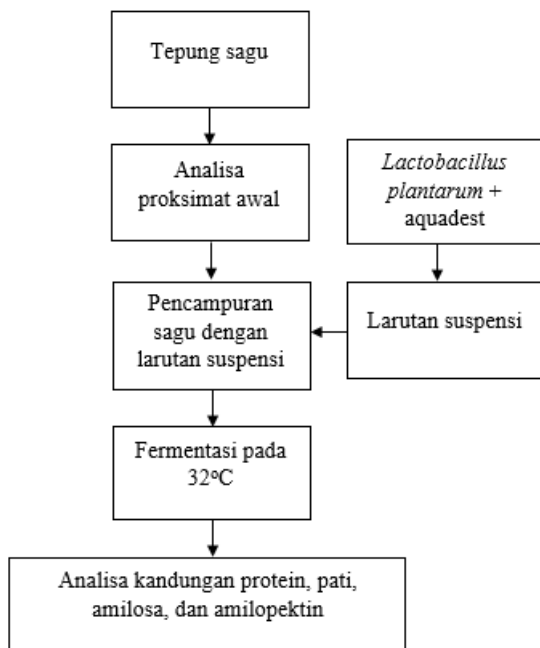
$$\% \text{ crude protein} = 6.25 \times \% N$$

$$\%N = \frac{\text{titer blanko} - \text{titer sample} \times N \times 0.014}{\text{Berat Sample}} \times 100\%$$

Ket

N = Normalitas NaOH

III.8 Flowchart Prosedur Penelitian



Gambar II.5 Flowchart Prosedur Penelitian Tepung Sagu

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Sagu merupakan tanaman penghasil pati di Indonesia yang ketersediaannya terbesar di dunia dan potensinya cukup berlimpah. Varietas tanaman sagu yang terdapat di Indonesia adalah jenis *Metroxylon* dan *Arenga*. Hampir setiap bagian dari tanaman sagu umumnya dapat dimanfaatkan oleh masyarakat di Indonesia. Batang sagu merupakan bagian dari tanaman sagu yang pemanfaatannya paling besar. Karena sagu sendiri merupakan tanaman yang menyimpan cadangan makannya di batangnya sehingga kandungan pati dalam batang sagu cukup besar. Akan tetapi kandungan nutrisi dari batang sagu berupa protein memiliki kadar yang sangat rendah. Oleh dari itu perlu dilakukannya penelitian untuk meningkatkan kadar nutrisi dari batang sagu. Pada penelitian ini digunakan sagu jenis *Metoxylon* sp. Yang merupakan sagu dengan kandungan pati yang lebih tinggi dari pada varietas lainnya. Proses yang dilakukan pada penelitian ini adalah fermentasi terendam menggunakan mikroorganisme berupa bakteri *Lactobacillus plantarum* untuk meningkatkan kadar proteinnya.

Lactobacillus plantarum digunakan dalam penelitian ini karena bakteri ini aman untuk dikonsumsi. Menurut Havenaar (1992) bakteri ini berperan positif menjaga keseimbangan mikroflora usus serta membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, dikenal sebagai efek probiotik. Probiotik adalah kultur tunggal atau campuran dari mikrobia hidup yang dikonsumsi oleh manusia atau hewan, bermanfaat bagi host (hewan atau manusia) dengan jalan menjaga keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan. Peranan bakteri asam laktat sebagai bakteri probiotik sangat ditentukan oleh sifatnya yaitu tetap dalam keadaan hidup sejak dikonsumsi hingga mencapai usus manusia.

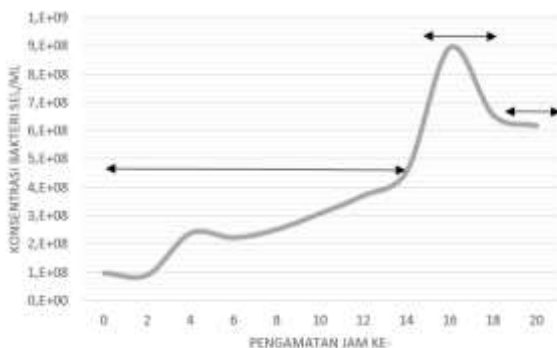
IV.I. Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Sebelum melakukan fermentasi diperlukan pembuatan kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dengan cara membiakan *Lactobacillus plantarum* selama 24 jam dengan menghitung jumlah bakterinya dengan interval 2 jam. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* ini dibuat untuk mengetahui waktu yang diperlukan untuk membiakan bakteri agar mencapai jumlah sel yang sesuai dengan variabel dalam fermentasi. Adapun variabel jumlah bakteri yang digunakan adalah 7×10^{10} sel, 7×10^{11} sel, $1,05 \times 10^{12}$ sel dan $3,5 \times 10^{13}$ sel. Menurut Gunawan, dkk. (2013) bakteri *Lactobacillus plantarum* memiliki laju pertumbuhan yang cukup tinggi dalam kurun waktu 24 jam. Sedangkan untuk variabel lama fermentasinya adalah 12 jam, 24 jam dan 36 jam. Waktu yang digunakan untuk fermentasi ini tidak terlalu lama karena apabila waktu yang digunakan dalam fermentasi terlalu lama maka akan menyebabkan perubahan warna pada tepung yang difermentasi.

Pada bakteri, pertumbuhan secara asexual dan disebut dengan pembelahan biner. Pembelahan biner berlangsung dengan interval yang teratur dengan penambahan atau kelipatan secara eksponensial. Fase pertumbuhan bakteri merupakan fase pembelahan sel bakteri yang melalui beberapa fase yaitu, Fase lag, Fase Logaritma/Eksponensial, Fase Stasioner dan Fase Kematian.

Fase Lag merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikro organisme pada media sebelumnya. Ketika sel telah menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru maka sel mulai membelah hingga mencapai populasi yang maksimum. Fase ini disebut fase logaritma atau fase eksponensial. Pada fase ini tidak ada penambahan populasi, sel mengalami perubahan dalam komposisi kimia dan bertambah ukuran, substansi intraseluler bertambah. Fase Logaritma / eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah

menjadi dua sel. Menurut Pramono, dkk. (2003) fase eksponensial pada bakteri *Lactobacillus plantarum* yang menggunakan media deMann Rogosa Sharpe Agar (MRSA), dan deMann Rogosa Sharpe Broth (MRSB) terjadi pada pertumbuhan jam ke-10. Lalu bakteri memasuki fase stasioner yang dimana terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Sehingga jumlah bakteri keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel.



Gambar IV.1 Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Pada kurva pertumbuhan Gambar IV.1 digunakan biakan bakteri 10 ose. Dapat dilihat bahwa pada kurva pertumbuhan yang telah dibuat didapatkan fasa lag yang terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-14. Lalu dilanjutkan dengan fasa eksponensial yang terjadi pada jam ke-14 hingga jam ke-16. Fase statis terjadi setelahnya. Fase adaptasi sesuai dengan hasil penelitian Longhi, dkk. (2013), yang mengatakan bahwa fase ini terjadi pada jam ke-0 sampai ke-12. Sedangkan untuk fase eksponensial sedikit berbeda. Pada penelitian Gunawan, dkk. (2015) fase log berlangsung sampai jam

ke-24. Hal ini dapat dikarenakan media yang digunakan berbeda. Pada penelitian sebelumnya media yang digunakan adalah deMann Rogosa Sharpe Broth. Sedangkan pada penelitian ini media yang digunakan adalah Nutrient Broth.

IV.2 Proksimat Awal Kandungan Sagu

Proksimat awal kandungan dari sagu perlu diketahui agar dapat mengetahui pengaruh fermentasi yang akan dilakukan terhadap komposisi yang terdapat dari sagu tersebut. Komposisi dari sagu berupa protein, pati, lemak, dan serat dianalisa menggunakan metode AOAC (2005). Selain itu kandungan asam amino dan amilosa yang terkandung di dalam sagu dianalisa berurut-urut menggunakan HPLC dan spektrofotometer.

Tabel IV.1 Hasil Analisis Proximat Awal Sagu

Komposisi	Kadar
Kadar Pati	82,90 %
Kadar Protein	1,41 %
Kadar Serat Kasar	0,42 %
Kadar Lemak	0,26 %
Kadar Abu	1,37 %
Kadar Air	13,29 %

Dari hasil analisa komposisi proksimat awal di atas dapat dilihat bahwa hasil analisa yang dilakukan menghasilkan komposisi yang sesuai dengan hasil dari Direktorat Gizi Departemen Kesehatan (1995) bahwa komposisi pati sagu relatif tinggi yaitu di atas 70% namun kadar protein sagu termasuk rendah yaitu sekitar 1,4 %

Tabel IV.2 Tabel Komposisi Amilosa dan Amilopektin Sagu

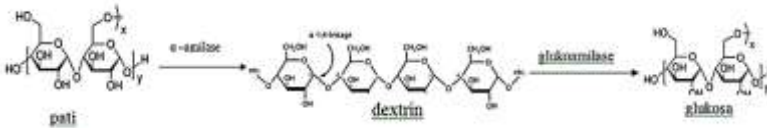
Komposisi	Kadar
Kadar Amilosa	20,61 %
Kadar Amilopektin	79,39 %

Menurut Srichuwong dkk.,(2005) dan Riley dkk., (2006), amilosa dan amilopektin berpengaruh pada sifat tepung yang dihasilkan. Dapat dilihat dari hasil analisa yang dilakukan kadar dari amilopektin lebih tinggi yaitu 79.39% dibanding dengan amilosa yaitu 20,61%. Hasil ini kurang sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Ahmad dan Williams (1998) yang menyatakan bahwa rasio perbandingan amilosa dan amilopektin pada pati sagu adalah 27/73. Hal ini dipengaruhi karena sifat fungsional pati pada tepung juga bervariasi tergantung oleh varietas, kondisi alam, dan tempat tanaman tersebut. Kecenderungan terjadinya retrogradasi menyebabkan kristalisasi yang disertai dengan kecilnya molekul amilosa dan panjangnya rantai amilopektin (Peroni dkk., 2006). Amilopektin merupakan komponen yang berperan penting dalam proses gelatinisasi. Tingginya kadar amilosa dapat menurunkan kemampuan pati untuk mengalami gelatinisasi (Tester dan Morisson, 1990).

IV. 3 Pengaruh Jumlah Bakteri dan Lama Fermentasi terhadap Kandungan Pati

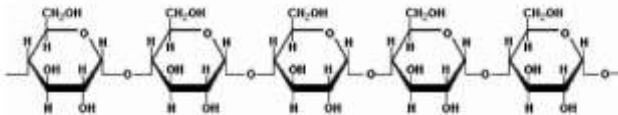
Molekul pati tersusun atas dua komponen, yaitu amilosa merupakan polisakarida rantai lurus, digabungkan dengan ikatan α -1,4 dan amilopektin merupakan polisakarida rantai bercabang, digabungkan dengan ikatan α -1,4 pada rantai lurus dan percabangannya ikatan α -1,6. Panjang rantai adalah bervariasi tergantung dari sumber botaninya. Berat molekul amilosa relatif lebih kecil, berkisar dari beberapa ribu sampai 500.000 dan larut dalam air, sedangkan amilopektin mempunyai berat molekul lebih besar, serta tidak larut dalam air (Thomas dan Atwell, 1999; Whistler dan Daniel, 1984). Dalam pengolahan makanan, pati mengalami hidrolisis amilosa dan amilopektin dengan bantuan enzim amilase. Enzim amilase ini diproduksi oleh bakteri asam laktat, seperti *Lactobacillus plantarum*, yang mana dalam industri makanan digunakan untuk menghidrolisis pati menjadi maltosa, oligosakarida, lalu glukosa, dan kemudian memfermentasi pati

menjadi asam laktat atau mengubah menjadi produk lainnya seperti protein. (Hui, dkk., 2005)



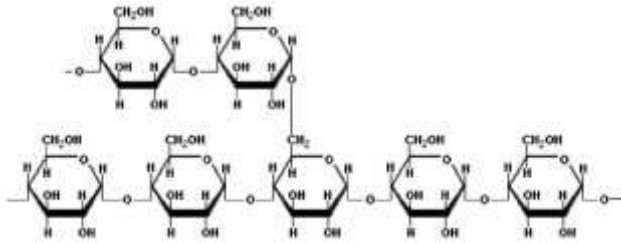
Gambar IV.2 Proses Hidrolisis Pati Menjadi Glukosa

Amilosa didominasi oleh rantai linear dari α (1-4) dari unit D-glucosyl. Amilosa memiliki struktur heliks linear, dan bagian dalam heliks adalah lipofilik dan hanya terdiri dari atom hidrogen. Di sisi lain, ada kelompok-kelompok hidroksil hidrofilik di luar rantai amilosa. Amilosa terletak di bagian amorf dari granul pati. Amilosa memiliki gel yang lebih kaku dan lapisan film yang lebih kuat daripada amilopektin setelah dimasak (Hee-Young An, 2005).



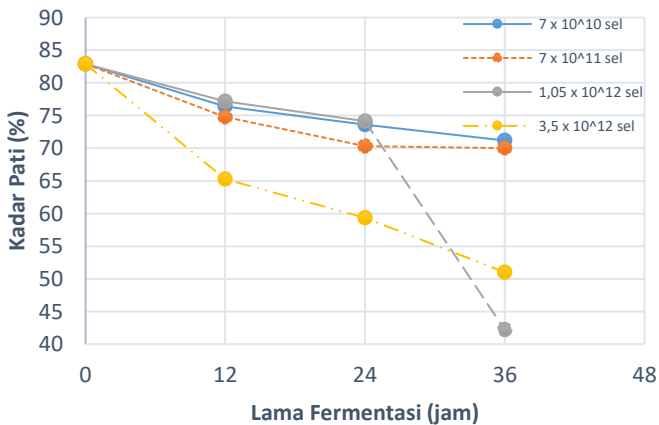
Gambar IV.3 Struktur Rantai Amilosa

Amilopektin adalah polisakarida bercabang yang terdiri dari α (1, 4) glikosidik terikat dengan α (1, 6) glikosidik. Granula pati terdiri dari lapisan konsentris; lapisan padat yang terdiri dari kristal yang sebagian besar bersifat amorf. Di daerah kristalin tersebut, rantai amilopektin terikat secara heliks ganda. Pati, dengan kandungan amilopektin tinggi cenderung menghasilkan pasta pati yang renyah. Bentuk molekul amilopektin digambarkan sebagai kelompok yang berperan dalam pencegahan pembentukan interaksi antarmolekul ikatan hidrogen. Oleh karena itu, hasil amilopektin dalam gel lebih lembut dibandingkan dengan gel amilosa. (Hee-Young An, 2005).



Gambar IV.4 Molekul amilopektin

Modifikasi pati ini bertujuan untuk memperbaiki sifat-sifat pati sehingga dapat diaplikasikan secara lebih luas. Hal ini penting karena sebagian besar penggunaan pati dalam bentuk dilarutkan pada perlakuan temperatur. Modifikasi ini dapat dilakukan dengan cara hidrolisis, oksidasi, esterifikasi dan lain-lain. Secara umum perlakuan waktu dan jumlah sel yang digunakan berpengaruh terhadap sifat pati yang dihasilkan. Semakin lama dan semakin tinggi jumlah sel untuk melakukan hidrolisis, akan diperoleh pemotongan rantai α -1,4 glikosidik yang lebih banyak.

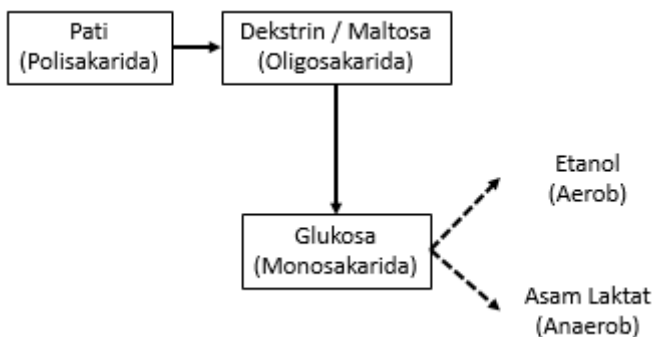


Gambar IV.5 Gambar Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Pati

Dari grafik kandungan pati di atas dapat dilihat bahwa kadar pati dari ketiga konsentrasi menurun terhadap waktu fermentasi yang digunakan. Untuk variabel 70 milyar sel kadar pati menurun dari 82,9% menjadi 76,39% pada fermentasi jam ke 12, 73,62% pada jam ke 24, dan 71,18% pada jam ke 36. Untuk variabel 700 milyar sel kadar pati menurun dari 82,9% menjadi 74,77% pada fermentasi jam ke 12, 70,33% pada jam ke 24, dan 70,01% pada jam ke 36. Untuk variabel 1,05 triliun sel kadar pati menurun dari 82,9% menjadi 77,2% pada fermentasi jam ke 12, 74,12% pada jam ke 24, dan 42,22% pada jam ke 36.

Data tersebut menunjukkan trend yang berbeda-beda pada masing-masing variabelnya. Untuk penggunaan jumlah sel paling rendah maka cenderung konstan penurunan kadar pati yang terjadi untuk setiap 12 jam fermentasi yang dilakukan. Kemudian untuk jumlah sel yang lebih tinggi digunakan maka penurunan kadar pati terjadi cukup signifikan untuk fermentasi dari jam ke 12 hingga jam ke 24, setelah itu cenderung stagnan. Dan untuk jumlah sel tertinggi menunjukkan trend penurunan yang sangat signifikan terjadi pada fermentasi jam ke 24 hingga jam ke 36. Hal ini sesuai dengan jurnal yang kami baca yang menyatakan bahwa fermentasi optimal terjadi pada jam ke 12 hingga jam ke 36. Namun, dari 3 trend diatas dapat disimpulkan bahwa semakin banyak jumlah sel *Lactobacillus plantarum* dan semakin lama waktu fermentasi, maka kadar pati akan semakin menurun.

Penurunan kadar pati ini disebabkan oleh terurainya pati menjadi dekstrin atau maltosa yang merupakan oligosakarida yang lalu menjadi glukosa yang merupakan monosakarida dan apabila difermentasi secara langsung akan menjadi etanol apabila dalam kondisi aerob dan menjadi asam laktat apabila dalam kondisi anaerob seperti pada kondisi penelitian ini (Gambar IV.6). Akan tetapi, pada penelitian ini analisa hanya dilakukan sampai terurainya pati menjadi amilosa dan amilopektin. Untuk analisa yang lebih jauh yaitu konversi pati ke dekstrin, glukosa dan asam laktat tidak dilakukan.



Gambar IV.6 Konversi Fermentasi Pati

Hasil terbaik didapatkan pada variabel jumlah sel 1,05 triliun dengan lama fermentasi 36 jam berhasil menurunkan pati sebesar 40,68%. Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan singkong, kandungan pati dapat dilakukan penurunan hingga mencapai 72,7%. Hal ini menunjukkan bahwa pati pada sagu jauh lebih sulit untuk diuraikan jika dibandingkan dengan pati singkong. Menurut Cecil et al (1982), bila dibandingkan dengan granula pati lain. Pati sagu berbentuk oval dengan ukuran yang cukup besar yaitu 20-60 mikron. Dan juga pati sagu mempunyai suhu gelatinasi yang cukup tinggi, sekitar 69°C.

Tabel IV.3 Karakteristik Pati Sagu dan Pati Lainnya

Karakteristik	Jenis Pati			
	Sagu	Jagung	Beras	Gandum
Bentuk granula	oval	bulat	poligonal	Bulat
Ukuran granula (μ)	20-60	15	3-8	2-10
Amilosa (%)	27	26	17	25
Suhu gelatinasi (°C)	69	62	66	65

(Cecil dkk., 1982)

Menurut Wurzburg (1989), prinsip pengembangan granula adalah karena adanya penetrasi cairan yang masuk ke dalam granula dan terperangkap ke dalam susunan molekul amilosa dan amilopektin. Pengembangan granula karena adanya pertahanan yang lemah antar ikatan hidrogen. Atom hidrogen dari gugus hidroksil tertarik oleh muatan negatif atom oksigen dari gugus hidroksil yang lain. Meningkatnya suhu suspensi, akan mengakibatkan makin melemahnya ikatan hidrogen. Karena molekul air mempunyai energi yang lebih, sehingga ukuran granula makin besar. Akan tetapi jika suhu tetap naik maka granula akan pecah sehingga molekul pati akan keluar terlepas dari granula dan masuk dalam sistem larutan.

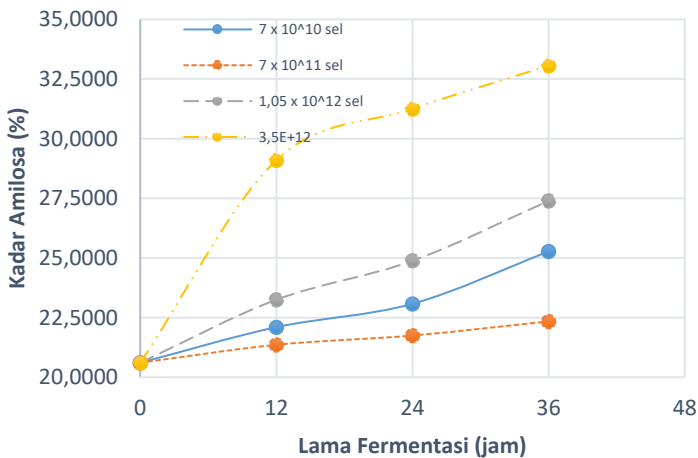
Oleh karena itu pati sagu tergolong ke dalam resistant starch (RS). RS adalah jenis modifikasi sagu yang sulit dicerna oleh enzim pencernaan seperti amilase. RS memiliki sifat seperti halnya serat makanan, sebagian serat bersifat tidak larut dan sebagian lagi merupakan serat yang larut (Asp 1992). Beberapa sumber karbohidrat seperti gula dan pati dapat dicerna dan diserap secara cepat di dalam usus halus dalam bentuk glukosa, yang selanjutnya diubah menjadi energi. RS masuk ke dalam usus besar seperti halnya serat makanan (Asp 1992).

Proses produksi RS biasanya menggunakan pati yang mengandung amilosa tinggi. Kandungan amilosa pada beberapa pati sumber bahan pangan yaitu tapioka 17%, kentang 21%, beras 28,60%, beras dengan kadar amilosa rendah 2,32%, gandum 28%, barley 25,30%, barley kaya amilosa 44,10%, oat 29,40%, maizena 28,70%, dan maizena kaya amilosa 67,80% (Eliasson 1996).

Berdasarkan data diatas, didapatkan kenaikan kadar pati terbesar adalah dari 20,61% menjadi 27,59%. Hal ini menunjukkan bahwa modifikasi sagu dengan cara fermentasi dapat meningkatkan kadar amilosa dari pati tersebut sehingga memiliki nilai fungsional untuk fortifikasi serat, mereduksi kalori, dan mengoksidasi lemak.

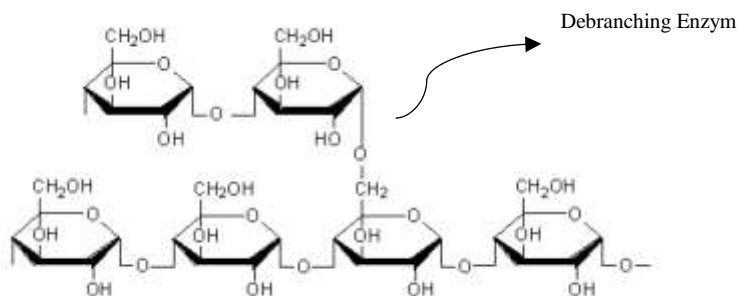
Pati adalah karbohidrat yang merupakan polimer glukosa, dan terdiri atas amilosa dan amilopektin. Menurut Jacobs dan Delcour (1998), amilosa merupakan bagian polimer linier dengan ikatan α -(1 \rightarrow 4) unit glukosa. Sedangkan amilopektin merupakan polimer α -(1 \rightarrow 4) unit glukosa dengan rantai samping α -(1 \rightarrow 6) unit glukosa. Dalam suatu molekul pati, ikatan α -(1 \rightarrow 6) unit glukosa ini jumlahnya sangat sedikit, berkisar antara 4–5%. Namun, jumlah molekul dengan rantai yang bercabang, yaitu amilopektin, sangat banyak dengan derajat polimerisasi 10^5 – 3×10^6 unit glukosa.

Dengan dilakukannya fermentasi maka sifat kimia dan atau fisik pati dapat berubah dengan cara memotong struktur molekul, menyusun kembali struktur molekul, oksidasi, atau substitusi gugus kimia pada molekul pati



Gambar IV.7 Gambar Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Amilosa

Dari hasil fermentasi didapatkan bahwa dengan lamanya fermentasi dan semakin banyak jumlah bakteri, kadar dari amilosa meningkat. Menurut Laga (2006) peningkatan jumlah amilosa terjadi akibat putusnya rantai cabang amilopektin pada ikatan α 1-6 glikosida. Secara otomatis jumlah rantai cabang amilopektin akan berkurang dan meningkatkan jumlah rantai lurus amilosa sebagai hasil pemutusan ikatan cabang amilopektin. Pemutusan rantai ini dilakukan oleh debranching enzim berupa enzim isoamilase.



Gambar IV.8 Pemutusan Rantai Cabang Amilopektin

Untuk mengetahui proses sintesis amilosa dan amilopektin pada tanaman, dapat dilakukan melalui siklus konversi sukrosa menjadi amilosa dan amilopektin, yang secara garis besar disajikan pada Gambar IV.7. Berdasarkan mekanisme tersebut, sukrosa digunakan sebagai substrat dasar. Dan rantai dari amilopektin dapat diputus dan menghasilkan amilosa.

Pada tiap variabel jumlah bakteri menunjukkan peningkatan kadar amilosa dengan lamanya waktu fermentasi yang digunakan. Pada proksimat awal sagu sebesar 20,61% dapat meningkat menjadi 25,27% untuk variabel 7×10^{10} sel, 22,34% untuk variabel 7×10^{11} sel, 27,39% untuk variabel $1,05 \times 10^{12}$ sel dan 33,06% untuk variabel $3,5 \times 10^{13}$ sel.

Sehingga dapat dilihat bahwa hasil terbaik untuk kadar amilosa sebesar 33,06% diperoleh dengan menggunakan variabel jumlah bakteri $3,5 \times 10^{13}$ dan waktu fermentasi 36 jam.

Pada penelitian sebelumnya, yang dilakukan oleh Harianie dkk., (2009), didapatkan bahwa kenaikan kadar amilosa pada pati menggunakan debranching enzym, (isoamilosa) adalah sekitar 33,3%. Sedangkan kenaikan kadar amilosa pada penelitian ini adalah sekitar 60,41%. Perbedaan ini terjadi karena jenis pati dan prosedur yang digunakan berbeda. Pada penelitian sebelumnya bahan yang digunakan adalah pati singkong dan tidak digunakan mikroorganisme melainkan enzim pullulanase.

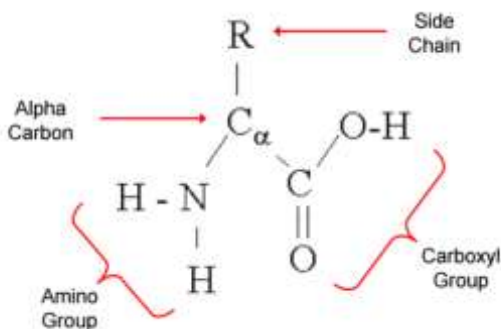
IV.4 Pengaruh Jumlah Sel dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein

Protein adalah makromolekul yang tersusun dari bahan dasar asam amino. Asam amino yang menyusun protein ada 20 macam. Asam amino dibagi ke dalam 2 kelompok yaitu asam amino esensial dan non-esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi dalam tubuh sehingga harus ditambahkan dalam bentuk makanan, sedangkan asam amino non-esensial dapat diproduksi dalam tubuh. Asam amino umumnya berbentuk serbuk dan mudah larut dalam air, namun tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Suharsono, 1970).

Asam-asam amino ini satu sama lain terikat oleh ikatan peptida. Fungsi utama protein adalah untuk memelihara jaringan yang ada, membangun jaringan atau sel baru, serta menghasilkan dan mengatur energi (Belitz dan Grosch, 1999).

Peran dan aktivitas protein dalam proses biologis antara lain sebagai katalis enzimatis, bahwa hampir semua reaksi kimia dalam sistem biologis dikatalis oleh makromolekul yang disebut enzim yang merupakan satu jenis protein. Sebagian reaksi seperti hidrasi karbondioksida bersifat sederhana, sedangkan reaksi lainnya seperti replikasi kromosom sangat rumit (Stryer: 1995). Enzim mempunyai daya katalitik yang besar, umumnya meningkatkan kecepatan reaksi sampai jutaan kali.

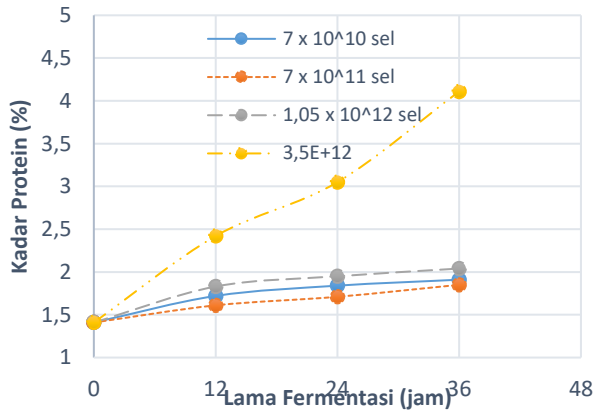
Protein juga berfungsi sebagai pengangkut dan penyimpan molekul lain seperti oksigen, mendukung secara mekanis sistem kekebalan (imunitas) tubuh, menghasilkan pergerakan tubuh, sebagai transmittor gerakan syaraf dan mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan. Analisa elementer protein menghasilkan unsur-unsur C, H, N dan O dan sering juga S. Disamping itu beberapa protein juga mengandung unsur-unsur



lain, terutama P, Fe, Zn dan Cu (Soerodikoesoemo & Hari, 1989).

Gambar IV.9 Struktur Asam Amino Penyusun Protein

Asam amino diperlukan untuk biosintesis protein. Atom karbon dan nitrogen yang berasal dari asam amino membentuk cincin purin and primidin, dan energi dihasilkan oleh ATP (Tortora, 2010).



Gambar IV.10 Gambar Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Protein

Dari grafik kandungan protein diatas dapat dilihat bahwa kadar protein dari keempat jumlah sel meningkat. Untuk variabel 70 milyar sel kadar protein meningkat dari 1,41% menjadi 1,72% pada fermentasi jam ke 12, 1,84% pada jam ke 24, dan 1,91% pada jam ke 36. Untuk variabel 700 milyar sel kadar protein meningkat dari 1,41% menjadi 1,61% pada fermentasi jam ke 12, 1,71% pada jam ke 24, dan 1,85% pada jam ke 36. Kemudian pada variabel 1,05 triliun sel kadar protein meningkat dari 1,41% menjadi 1,83% pada jam ke 12, 1,95% pada jam ke 24, dan 2,04% pada jam ke 36. Dan untuk variabel 3 triliun sel kadar protein meningkat dari 1,41% menjadi 2,42% pada jam ke 12, 3,05% pada jam ke 24, dan 4,11% pada jam ke 36.

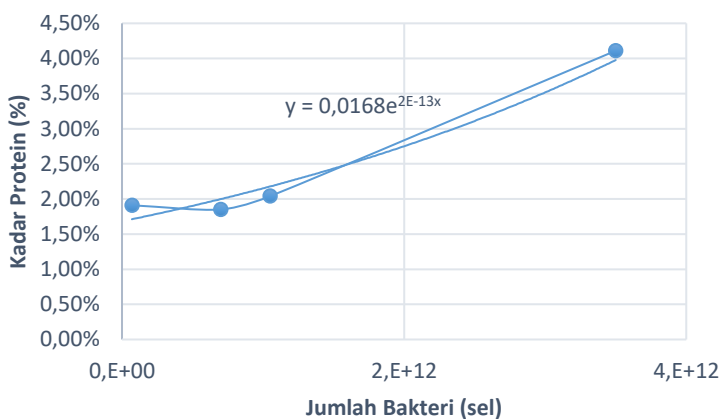
Pada penelitian Gunawan, dkk (2015) yang menggunakan substrat yang berbeda yaitu singkong, kandungan protein awal adalah 1,93% kemudian naik menjadi 2,94% pada jam ke 24 yang mana terjadi peningkatan kadar protein sebesar 52,3%, kemudian

110% pada jam ke 48. Sedangkan penelitian kami yang menggunakan substrat sagu dengan menggunakan variabel 3 triliun sel bakteri dan dengan lama waktu fermentasi 24 jam dapat meningkatkan kadar protein hingga mencapai 116%. Dapat terlihat bahwa pada penelitian ini, semakin tinggi jumlah sel bakteri yang digunakan dapat meningkatkan nilai penambahan protein sehingga dapat mengefisiensi waktu fermentasi yang dilakukan. Hal ini disebabkan karena kemampuan bakteri mengeluarkan enzim ekstraseluler (protein) ke dalam sagu selama proses fermentasi. Kenaikan kadar protein ini juga dipengaruhi oleh banyaknya jumlah sel *Lactobacillus plantarum*. Bakteri asam laktat telah lama dikenal dan digunakan oleh manusia dalam proses pengolahan pangan, yaitu sejak digunakannya fermentasi sebagai salah satu cara memperoleh produk akhir yang secara organoleptik dan kualitas lebih diterima daripada bahan bakunya. Bakteri ini memberikan kontribusi yang cukup besar terhadap flavour, tekstur, dan masa simpan produk fermentasi. Selain itu, ditinjau dari segi nilai gizi, fermentasi menghasilkan komponen-komponen nutrisi yang lebih mudah dicerna melalui perombakan serta diproduksinya senyawa-senyawa yang menguntungkan oleh mikroorganisme yang terlibat di dalamnya. Selain itu, peningkatan jumlah protein ini disebabkan oleh bertambahnya jumlah mikroorganisme yang berperan sebagai Single Cell Protein (SCP), yaitu protein yang didapat dari mikroorganisme (Becker, 1982). Alasan lainnya yaitu fermentasi mengakibatkan mikroorganisme mengkonversi substrat yang mengandung karbon dan nitrogen menjadi protein.

Lactobacillus plantarum pun ternyata mampu menghasilkan plantarian yang mempunyai protein antimikrobia dengan sifat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk (Atrih et al, 1993). Asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat mempunyai sifat antibakteri terhadap bakteri patogen enterik (Ray, 1996). Hidrogen peroksida yang diproduksi bakteri asam laktat untuk melindungi dari keracunan oksigen, ternyata dapat menghasilkan radikal hidroksi yang sangat reaktif dan dapat merusak komponen sel penting semacam membran

lemak dan DNA bakteri patogen dan pembusuk (Daeschel et al., 1989)

Apabila ditinjau dari hasil penelitian, memang dengan variabel 3,5 triliun sel dan waktu fermentasi 36 jam belum dapat memberikan hasil kandungan protein yang mencapai SNI yaitu 7%. Oleh karena itu apabila dibuat grafik kadar protein terhadap jumlah bakteri pada waktu fermentasi 36 jam, maka akan dapat diketahui perkiraan jumlah sel bakteri yang dapat meningkatkan kadar protein hingga 7%



Gambar IV.11 Gambar Plot Kadar Protein terhadap Jumlah Bakteri

Pada grafik di atas didapatkan persamaan laju pertumbuhan bakteri dengan persamaan eksponensial $y = 0,0168 e^{(2 \times 10^{-13})x}$. Dari persamaan tersebut maka akan didapatkan untuk mencapai kadar protein 7% diperlukan jumlah bakteri sebanyak 3×10^{13} sel *Lactobacillus plantarum* dengan lama fermentasi 36 jam

IV.5. Analisis Pengaruh Variabel terhadap Hasil Penelitian

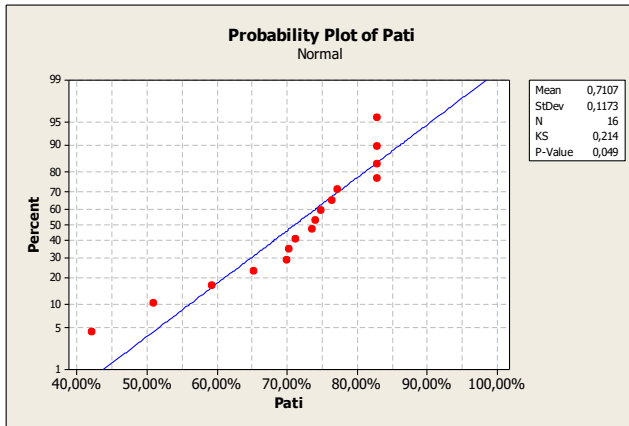
Dengan data yang didapatkan dari hasil penelitian, maka untuk mengetahui variabel – variabel yang memiliki pengaruh yang signifikan dapat digunakan bantuan software minitab 16.

Tabel IV.4 Data Hasil Penelitian

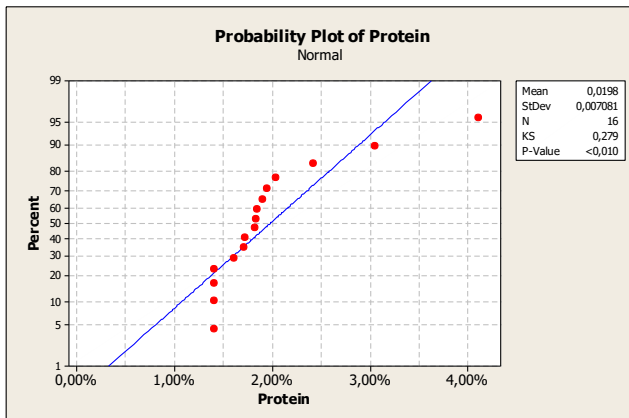
Run	Jumlah Mikro-organisme	Lama Fermentasi (jam)	Pati (%)	Protein (%)	Amilosa (%)	Amilopektin (%)
1	7×10^{10}	12	76,39%	1,72%	22,10%	77,90%
2	7×10^{10}	24	73,62%	1,84%	23,08%	76,92%
3	7×10^{10}	36	71,18%	1,91%	25,27%	74,73%
4	7×10^{11}	12	74,77%	1,61%	21,36%	78,64%
5	7×10^{11}	24	70,33%	1,71%	21,75%	78,25%
6	7×10^{11}	36	70,01%	1,85%	22,34%	77,66%
7	$1,05 \times 10^{12}$	12	77,20%	1,83%	23,25%	76,75%
8	$1,05 \times 10^{12}$	24	74,12%	1,95%	24,88%	75,12%
9	$1,05 \times 10^{12}$	36	42,22%	2,04%	27,39%	72,61%
10	$3,5 \times 10^{12}$	12	65,29%	2,42%	29,10%	70,90%
11	$3,5 \times 10^{12}$	24	59,36%	3,05%	31,25%	68,75%
12	$3,5 \times 10^{12}$	36	51,00%	4,11%	33,06%	66,94%

Dari data pada tabel IV.2, dapat dibuat grafik normal probability plot untuk setiap variabel terhadap respon yang diinginkan. Normal probability plot ini digunakan untuk menunjukkan persebaran data, apakah data tersebut menyebar normal atau tidak. Apabila nilai p-value > 0.05 maka dapat dikatakan bahwa data tersebar normal. Data yang berdistribusi normal menandakan bahwa variabel tidak berpengaruh secara

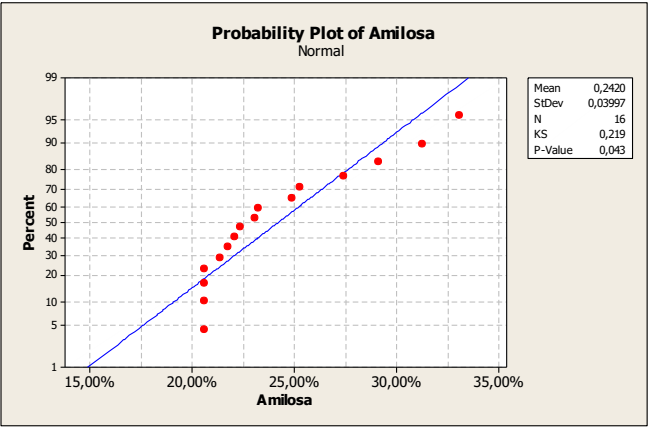
signifikan terhadap respon yang diinginkan. Sebaliknya, apabila nilai p-value < 0.05 maka dapat dikatakan bahwa data tersebut tidak terdistribusi normal. Data yang tidak berdistribusi normal menandakan bahwa variabel berpengaruh secara signifikan terhadap respon yang diinginkan.



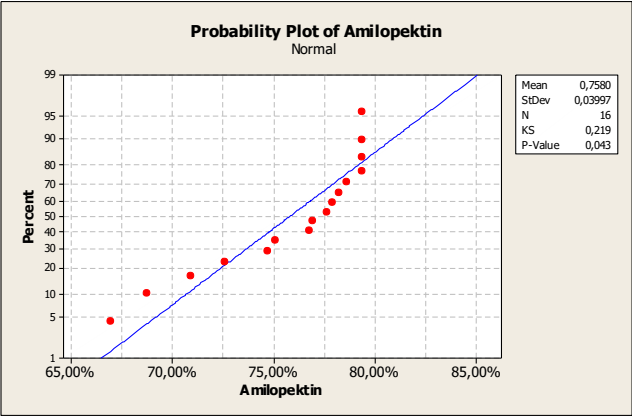
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar IV.12 *Normal Probability Plot* untuk Respon (a) Kadar Pati (b) Kadar Protein (c) Kadar Amilosa d) Kadar Amilopektin

Berdasarkan gambar IV.17 di atas, dapat dilihat bahwa nilai p value untuk kadar protein, kadar pati, kadar amilosa dan kadar amilopektin memiliki nilai p value $< 0,05$, secara berurutan 0,01 ; 0,049 ; 0,043 ; dan 0,043. Hal ini menunjukkan bahwa data hasil penelitian tidak terdistribusi normal. Hal ini dapat disebabkan karena adanya *range* nilai yang cukup ekstrim pada data hasil penelitian. Sehingga dapat dikatakan bahwa lama fermentasi dan jumlah bakteri mempengaruhi kadar protein, kadar pati, kadar amilosa, dan kadar amilopektin hasil fermentasi.

Tabel IV.5 Data Hasil Perhitungan pada Kadar Pati

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah Sel	3	0,032611	0,032611	0,010870	1,88	0,204
Lama Fermentasi	3	0,121523	0,121523	0,040508	7,00	0,010
Error	9	0,052117	0,052117	0,005791	-	-
Total	15	0,206251	-	-	-	-

$S = 0,0760973$ $R\text{-}Sq = 74,73\%$ $R\text{-}Sq(\text{adj}) = 57,89\%$

Untuk hasil pengolahan data kadar pati pada Tabel IV.5 menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan oleh variabel lama fermentasi. Pada data tersebut nilai p menunjukkan angka $< 0,05$. Sedangkan untuk jumlah mikroorganisme tidak memberikan pengaruh yang signifikan jika dilihat dari nilai $p = 0,240$.

Tabel IV.6 Data Hasil Perhitungan pada Kadar Protein

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah Sel	3	0,0003195	0,0003195	0,0001065	5,02	0,026
Lama Fermentasi	3	0,0002418	0,0002418	0,0000806	3,80	0,052
Error	9	0,0001908	0,0001908	0,0000212	-	-
Total	15	0,0007521	-	-	-	-

$S = 0,00460495$ $R\text{-Sq} = 74,62\%$ $R\text{-Sq(adj)} = 57,71\%$

Dari hasil pengolahan data, jumlah mikroorganisme fermentasi dan jumlah mikroorganisme memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein. Hal tersebut dapat dilihat dari Tabel IV.4 bahwa nilai p kurang dari 0,05; sedangkan lama fermentasi tidak memberikan pengaruh yang signifikan, dengan nilai $p = 0,052$

Tabel IV.7 Data Hasil Perhitungan pada Kadar Amilosa

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah Sel	3	0,0111318	0,0111318	0,0037106	8,24	0,006
Lama Fermentasi	3	0,0087820	0,0087820	0,0029273	6,50	0,012
Error	9	0,0040504	0,0040504	0,0004500	-	-
Total	15	0,0239642	-	-	-	-

$S = 0,0212142$ $R\text{-Sq} = 83,10\%$ $R\text{-Sq(adj)} = 71,83\%$

Untuk hasil pengolahan data kadar amilosa pada Tabel IV.7 menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan oleh variabel lama fermentasi dan jumlah mikroorganisme. Pada data tersebut nilai p menunjukkan angka yang sangat kecil dan $< 0,05$.

Tabel IV.8 Data Hasil Perhitungan pada Kadar Amilopektin

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah Sel	3	0,0111318	0,0111318	0,0037106	8,24	0,006
Lama Fermentasi	3	0,0087820	0,0087820	0,0029273	6,50	0,012
Error	9	0,0040504	0,0040504	0,0004500	-	-
Total	15	0,0239642	-	-	-	-

$S = 0,0212142$ $R\text{-Sq} = 83,10\%$ $R\text{-Sq}(\text{adj}) = 71,83\%$

Untuk hasil pengolahan data kadar amilopektin pada tabel IV.8 menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan oleh variabel lama fermentasi dan jumlah mikroorganisme yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

1. Semakin banyak jumlah sel *Lactobacillus plantarum* dan semakin lama fermentasi, akan semakin menurunkan kadar pati dan menaikkan kadar protein. Pada variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel dan 36 jam fermentasi kadar pati menurun dari 82,9% menjadi 51,00% dan kadar protein meningkat dari 1,41% menjadi 4,11%
2. Semakin banyak jumlah sel *Lactobacillus plantarum* dan semakin lama fermentasi, akan semakin meningkatkan kadar amilosa. Pada variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel dan 36 jam fermentasi kadar amilosa meningkat dari 20,61% menjadi 33,06%.
3. Dekomposisi pati belum sanggup untuk meningkatkan mutu tepung sagu termodifikasi dikarenakan kadar protein belum mencapai standar mutu SNI, yaitu 7%. Namun, produk dari penelitian ini memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi produk makanan rendah kalori atau yang biasa disebut pati tahan cerna / Resistance starch (RS).

V.2 Saran

1. Untuk penelitian selanjutnya dapat digunakan konsentrasi bakteri yang lebih tinggi agar didapatkan kadar protein yang sesuai dengan SNI tepung terigu.
2. Proses dekomposisi pati sagu masih cenderung sulit, maka perlunya dilakukan pre-treatment terlebih dahulu untuk menghasilkan tepung sagu modifikasi yang lebih optimal.
3. Tepung sagu modifikasi sangat berpotensi sebagai sumber pangan masyarakat Indonesia, sehingga pemanfaatan tanaman sagu yang masih sangat minim ini dapat lebih ditingkatkan untuk menaikkan nilai ekonomi dari tanaman sagu.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standarisasi Nasional. 1992. Tepung Terigu; SNI 01-2978-1992. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia. 2008. Sagu Sebagai Sumber Energi Alternatif.
- Chafid , Achmad dan Galuh Kusumawardhani. 2008. Modifikasi Tepung Sagu Menjadi Maltodekstrin Menggunakan Enzim α -Amylase. Semarang : Universitas Diponogoro
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Flach, Michiel. 1997. Sago Palm Metroxylon sagu. Germany : International Plant Genetic Resources Institute,
- Lena Yosina Krey, Dina. 1998. Teknik Pembibitan dan Penanaman Sagu (Metroxylon Spp) secara Tradisional oleh Penduduk Asli Sentani di Kabupaten Dati II Jayapura. Universitas Cendrawasih, Manokwari.
- Harijadi, W. 1993. Ilmu Kimia Analitik Dasar. Gramedia. Jakarta
- Haryanto, B. dan P. Pangloli. 1992. Potensi dan Pemanfaatan Sagu. Kanisius. Yogyakarta.
- Ishak, E., D. Sarinah, Amrullah dan B. Mariyati. 1984. Teknik Pengolahan Sagu. Makassar : Lembaga Penelitian Universitas Hasanuddin.
- Jiang, Xiaoling, Zhi Hao dan Jichun Tian. 2008. Variations in Amino Acid and Protein Contents of Wheat During Milling and Northern-Style Steamed Breadmaking. Beijing : Cereal Chem.
- Julfana, Rika Sutarno, Titin Anita Zaharah, Nora Idiawati. 2003. Hidrolisis Enzimatis Selulosa Dari Ampas Sagu Menggunakan Campuran Selulase Dari Trichoderma Reesei Dan Aspergillus Niger. Jayapura : Universitas Tanjungpura
- Kusnandar, Feri, Heru Pitria Hastuti, dan Elvira Syamsir. 2015. Pati Resisten Sagu Hasil Proses Hidrolisis Asam dan Autoclaving-Cooling. Bogor : Institut Pertanian Bogor

- Ni'maturohmah, Eva, Yunianta. 2015. Hydrolysis of Sago (Metroxylon Sago Rottb.) Starch by β -Amylase for Making Dextrin. Malang : Universitas Brawijaya
- Polnaya, Febby J., J. Talahatu, Haryadi, Djagal W. Marseno. 2009. Karakterisasi Tiga Jenis Pati Sagu (Metroxylon Sp.) Hidroksipropil. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada
- Purba, Elida, (2009), "Hidrolisis Pati Ubi Kayu (Manihot Esculenta) dan Pati Ubi Jalar (Impomonea batatas) menjadi Glukosa secara Cold Process dengan Acid Fungal Amilase dan Glukoamilase", Universitas Lampung, Lampung.
- Rahayu, Yeni, Fitmawati dan Herman. 2013. Analisis Keanekaragaman Sagu (Metroxylon sagu Rottb.) pada Tiga Tipe Habitat di Pulau Padang Kepulauan Meranti. Riau : Universitas Riau
- Shi . 2000. High Solids, Single Phase Process for Preparing Enzyme-Converted Starches. United State Patent No. 6,054,302.
- Steyn, Pieter S. 2006. Food Polysaccharides and Their Applications. USA : Taylor & Francis Group, LLC
- Sumarno, Sri Noegroho, Narsito dan Lip Izul Falah. 2002. Estimasi Kadar Protein Dalam Bahan Pangan Melalui. Jogjakarta : Universitas Gadjah Mada
- Analisis Nitrogen Total Dan Analisis Asam Amino
- Winarno, F.G. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wirakartakusumah, M.A., A. Apriyantono, M.S. Ma'arif, Suliantari, D. Muchtadi dan K. Otaka. 1984. Studi tentang Ekstraksi, Sifat-Sifat Fisiko Kimia Pati Sagu dan Pengkajian Enzima. Bogor : Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan

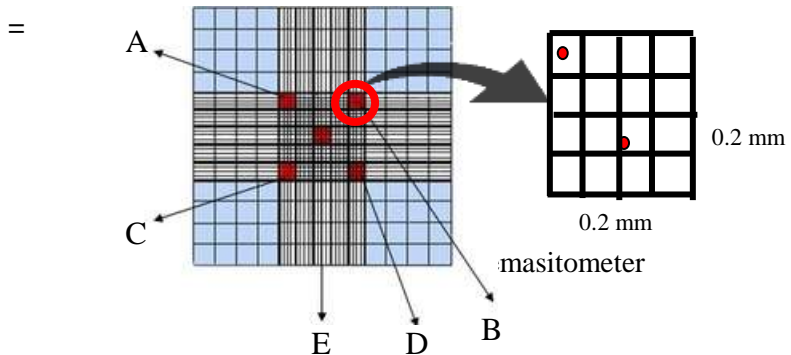
DAFTAR NOTASI

Notasi	Keterangan
L	Liter
mg	Miligram
g	Gram
s	<i>second</i>
mPas	<i>miliPascal</i>
°C	<i>Celsius</i>
°F	<i>Fahrenheit</i>
mL	Mililiter
N	Normalitas
TTA	<i>Total Titrable Acidity</i>
cp	<i>centipoise</i>

APPENDIKS

A.1 Perhitungan Jumlah Mikroorganisme (*Lactobacillus plantarum*)

Metode *Counting Chamber*



Jumlah bakteri dihitung menggunakan hemasitometer yang dibaca pada mikroskop dengan perbesaran 400x (lensa obyektif 40x dan lensa okuler 10x).

Perhitungan jumlah bakteri ini dilakukan tiga kali, sehingga diperoleh rata-rata jumlah bakteri setiap 2 jam dengan simpangan bakunya. Berikut merupakan contoh perhitungan jumlah sel *Lactobacillus plantarum* yang diambil pada jam ke-2 :

Run	Pengamatan					Jumlah total sel	Jumlah sel/ kotak	Jumlah sel/ mm ²	Jumlah sel/ mm ³	fp	jumlah sel/ml
	A	B	C	D	E						
1	3	2	3	11	5	24	4,8	120	1200	100	120000000
2	5	3	5	3	1	17	3,4	85	850	100	85000000
3	4	5	3	2	2	16	3,2	80	800	100	80000000
Rata-rata											95000000

Misalnya pada run ke-I

- $Jumlah\ Sel = 24$
- $\frac{Jumlah\ Sel}{Kotak} = \frac{24}{5} = 4,8$
- $(Jumlah\ kotak = 5 ; A, B, C, D\ dan\ E)$
- $\frac{Jumlah\ Sel}{mm^2} = \frac{jumlah\ sel}{kotak} \times \frac{1}{0.04\ mm^2} = \frac{4,8}{0.04} = 120$
- $\frac{Jumlah\ Sel}{mm^3} = \frac{jumlah\ sel}{mm^2} \times \frac{1}{0.1\ mm} = \frac{120}{0.1} = 1200$
- $\frac{Jumlah\ Sel}{mL} = \frac{jumlah\ sel}{mm^3} \times \frac{1000\ mm^3}{1\ mL} = 1.200\ \frac{sel}{mL}$
- $\frac{Jumlah\ Sel}{mL} =$
 $650.000\ \frac{sel}{mL} \times 100(faktor\ pengenceran)$
- $\frac{Jumlah\ Sel}{mL} = 120.000.000\ \frac{sel}{mL}$

Dilakukan perhitungan untuk masing-masing run. Sehingga diperoleh 3 data jumlah sel/mL. Kemudian dihitung rata-rata dan simpangan baku jumlah sel/mL untuk tiap 2 jam.

RIWAYAT HIDUP PENULIS 1



Ilham Muttaqin Zarkasie, putra dari pasangan Bapak Drh. Kamaluddin Zarkasie Ph.D dan Ibu Vita Satriana. Lahir di Bogor pada tanggal 27 Februari 1996.

Penulis mulai mengenyam pendidikan di TK TK Perwari Bandung (1999-2001), SD Sukadamai 3 Bogor (2001-2007), SMP Negeri 1 Bogor (2007-2010), SMA Negeri 3 Bogor (2010-2013) dan melanjutkan pendidikan sarjana di S1 Teknik Kimia FTI-ITS (2013-2017) yang kemudian pada

tahun 2017 mulai melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Biokimia dan menulis karya yang berjudul : ***“Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Kultur terhadap Mutu Sagu Termodifikasi”***

Penulis pernah aktif organisasi dalam BEM ITS sebagai wakil menteri Dalam Negeri (2015-2016)

E-mail penulis : ilham_zarkasie@yahoo.com

No. HP : 0857 1128 4203

Motto : Jadilah manusia yang bermanfaat dan nikmati hidup ini

Pesan : Baik jadi orang penting tapi lebih penting jadi orang baik

RIWAYAT HIDUP PENULIS 2



Wuwuh Wijang Prihandini, putri dari pasangan Bapak Prof. Dr. Supriyono, M.Pd dan Ibu Titik Purwowinarni, S.Pd. Lahir di Blitar pada tanggal 10 Juni 1995. Penulis mulai mengenyam pendidikan di TK At-Taqwa Bandung (1999), TK Aisyiyah Bustanul Atfal 9 Malang (2001), SD Negeri Percobaan 1 Malang (2001-2007), SMP Negeri 1 Malang (2007-2010), SMA Negeri 3 Malang (20010-2013) dan melanjutkan pendidikan sarjana di S1 Teknik Kimia FTI-ITS (2013-2017) yang kemudian pada tahun 2017 mulai melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Biokimia dan menulis karya yang berjudul : ***“Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Kultur terhadap Mutu Sagu Termodifikasi”***

E-mail penulis : wuwuh.wijang@gmail.com

No. HP : 0856 0809 3525

Motto : Tidak ada yang sia-sia dari belajar karena segala ilmu akan bermanfaat pada waktunya

Pesan : Restu orang tua adalah kunci kesuksesan